

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Terezy Tomkové

## Morfologická a molekulární charakterizace druhů rodu *Ceratomyxa* (Myxozoa) u ryb z čeledi Clinidae z pobřeží jižní Afriky

Předložená diplomová práce se zabývá morfologií a molekulární analýzou myxozoi rodu *Ceratomyxa* u ryb čeledi Clinidae.

Práce je členěna standardním způsobem, je psána srozumitelně, přehledně, a po formální stránce jí není co vytknout. Obsahuje pouze malé množství jazykových chyb či překlepů. Úvod se na 15 stranách zabývá charakteristikou skupiny Myxozoa, jeho závěrečná část je věnována rodu *Ceratomyxa* a rybímu hostiteli. Přestože se jedná o diplomovou práci, úvod je nazván jako Literární přehled. To bych čekala spíše v práci bakalářské. Tři cíle práce jsou velmi stručně formulovány. Naopak některé části kapitoly Metodika práce, týkající se molekulárních metod (izolace DNA, elektroforéza, klonování, sekvenace), jsou popsány až zbytečně podrobně (obširné popisy podstaty jednotlivých procesů). Výsledky na 10 stranách obsahují zejména mikrofotografie studovaných vzorků rodu *Ceratomyxa* a fylogenetické stromy. Kapitola Diskuse vhodně srovnává získané poznatky s dosud dostupnými informacemi a daty. Závěr srozumitelně shrnuje dosažené výsledky a naplnění cílů.

Drobné výhrady bych měla k používání určitých termínů, např. „rodina Ceratomyxidae“ (str. 11, patrně myšleno čeleď Ceratomyxidae?). Po první zmínce celého názvu druhu organismu se tento již dále píše zkratkou (tj. např. *Ceratomyxa cottoidii*, dále pak už jen *C. cottoidii*), rovněž tak metody fylogenetických analýz (ML, MP, BI). Latinské názvy rodů i druhů se píšou kurzívou i v citované literatuře (kap. 9.1 Literární zdroje). Několikrát citovaný Sniddall a kol. (1995) (včetně kapitoly 9.1) představuje ve skutečnosti autora jménem Siddall. U fylogenetického stromu na obr. 6 (str. 13) chybí odkaz na zdroj, ze kterého byl tento strom převzat, a rovněž zde chybí vysvětlení, proč jsou zvýrazněny některé taxony. Na straně 19 chybí odkazy na tabulky. První strana Úvodu zabývající se obecnou významností oboru parazitologie se dle mého názoru tematicky zcela vymyká zaměření předložené diplomové práce, jedná se spíše o jakýsi populárně-naučný (nikoliv odborný) úvod, který by mohl být úplně vynechán.

Větší výhrady mám k některým metodickým částem a k interpretaci výsledků – toho se týkají i mé následující dotazy:

1. Co si představujete pod pojmem „byly sestaveny KOMPLETNÍ datasets“? Proč byla při alignování použita právě metoda E-INS-i? V čem se liší například od metod G-INS-i nebo Q-INS-i? Byl 1 000 000 generací pro BI analýzu dostatečný? Na základě čeho tak můžete usuzovat?
2. Jak starý byl vyšetřovaný materiál? Byly vzorky jater a žlučníku nějak konzervovány? Jakým způsobem byly orgány připraveny pro mikroskopické vyšetření?

3. Na straně 8 mě zaujal pojem „puchýřky v ledvinách“, které u ryb způsobuje druh *Ceratomyxa shasta*. Mohla byste blíže specifikovat, jak takové léze vypadají a o co se konkrétně jedná?
4. Ve výsledcích postrádám výčet počtů vzorků (čísel vzorků), ve kterých byl každý „druh“ nalezen (tj. u kolika vyšetřovaných vzorků byl každý daný „druh“ nalezen). Není pak jasné, zda byl příslušný „druh“ reprezentován pouze jedním, nebo více vzorky. Bylo by možné tyto údaje doplnit? Bylo by možné zhodnotit i intenzitu infekce u jednotlivých vzorků, například semikvantitativně?
5. Pokud morfologická data „druhu“ nebyla k dispozici, znamenalo to, že vzorky byly mikroskopicky negativní? Nebo bude možné zpětně morfologii doplnit? Pokud jsou pro některé vzorky známa jen molekulární data, není poněkud předčasné mluvit nyní o druzích?
6. Podle jakého kritéria byli vybíráni zástupci jednotlivých „druhů“ do fylogenetického stromu uvedeného na Obr. 16, když je u některých „druhů“ (zejména č. 6 a č. 7) zřejmá výrazná vnitrodruhová variabilita? Fylogenetické vztahy mezi jednotlivými studovanými „druhy“ (tj. č. 1-7) se ve stromu na obr. 16 liší od vztahů na obr. 14 a 15, avšak tento fakt není nikde diskutován. Čím si ho vysvětlujete?
7. Podle mého názoru je poněkud předčasné na základě počtu 17 sekvencí, navíc ještě poměrně konzervativního genu 18S rRNA, hovořit o nějaké „populační struktuře“. *Ceratomyxa* sp. 7 je, pokud se nepletu, skupina s nízkou podporou ve všech třech typech analýz (ML, MP, BI), navíc se zde vyskytuje i polytomie. Neuvažovali jste i o tom, že by *Ceratomyxa* sp. 7 mohla být tvořena i několika různými druhy? Dle fotografií na obrázcích č. 11, 12 a 13 se domnívám, že by tomu tak i mohlo být.

I přes výše uvedené výhrady práci **doporučuji** k obhajobě a (s přihlédnutím k průběhu obhajoby) ji předběžně hodnotím známkou „velmi dobře“.

*Kvičera*

V Českých Budějovicích, 19. května 2016

MVDr. Jana Kvičerová, Ph.D.

## Posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Terezy Tomkové “Morfologická a molekulární charakterizace druhů rodu *Ceratomyxa* (Myxozoa) u ryb z čeledi Clinidae z pobřeží jižní Afriky”

Předkládaná práce má zcela standardní členění a do jisté míry i obsah. Zabývá se totiž, jak už název napovídá, popisem parazitů ze skupiny myxozoa u poměrně malého počtu druhů ryb z relativně malého území. To by samo o sobě nemělo být překážkou pro úspěšné obhájení. Jak autorka sama uvádí hned na začátku Úvodu, parazitů kolem nás je víc než dost. Pokud to tedy vědce (a grantové agentury) stále bude bavit, potrvá nejmíň několik desetiletí či spíše staletí intenzivního výzkumu, než detailně popíší alespoň většinu z nich. Magisterská práce je, dle mého názoru, ideální platforma pro podobné studie, díky jejich relativní metodologické nenáročnosti. Jak tedy v mých očích dopadla tato „diplomka“?

Bohužel tak trošku neslaně nemastně. Práci lze přitom vytknout jen velmi málo formálních či faktických chyb. Je psána velmi šlušnou, vědecky úspornou češtinou s minimem kostrbatých či nelogických spojení a slovních parazitů. Úvod a Literární přehled se povětšinou drží tématu (snad až na zbytečně zeširoka psaný odstavec o postavení hostitelského druhu v rámci systému ryb). Trošku mě zarazily snad jenom drobnosti. Například jako jedna z taxonomicky významných skupin parazitů jsou uváděni bičíkovci (Flagellata), tedy taxon v dnešní době už neexistující (str. 1). Dále jako hostitelský druh je v názvu kapitoly 2.7 (str. 14) prezentován pouze *Clinus cottoides*, ale v samotné práci sledujeme výsledky ze čtyř dalších rybích hostitelů.

Cíle práce jsou formulovány stručně a srozumitelně a metodická část je až neobvykle střídámá, což kvituji s povděkem. V případě některých detailů je však té střídmosti příliš. Nikde jsem totiž nenašel délku amplifikovaného a sekvenovaného úseku, což mi přijde zásadní opomenutí, které snižuje možnost posoudit sílu výsledků. Dále pak snad jen drobnosti v podobě chybějícího použitého modelu Bayesiánské analýzy v programu Mr. Bayes (předpokládám, že šlo o GTR). Autorka také na začátku této kapitoly uvádí, že veškeré kroky byly provedeny v programu Geneious, v zápětí však cituje další software (Seaview, Tracer a FigTree), který, pokud vím, není součástí Geneious.

Výsledky jsou rozděleny na morfologickou a fylogenetickou část, avšak jejich řazení v textu mi přijde nelogické. Druhy jsou totiž definovány fylogenetickou analýzou SSU rRNA a tato část by tedy měla být uvedena jako první. Přiznám se, že kvalitu morfologické části nejsem schopen odborně posoudit, přijde mi odpovídající, pouze mi nebylo zřejmé, jestli index *n* označuje počet vyšetřených spor, nebo počet jedinců hostitele, ze kterých byly spory izolovány. Opět tak nemohu posoudit robustnost výsledků morfologické charakterizace. Fylogenetická analýza získaných

sekvencí je po metodické stránce povětšinou v pořádku, výsledky jsou hezky graficky prezentovány, ale přesto mám několik zásadnějších připomínek/otázek:

1. jakým způsobem bylo provedeno rozdělení SSU rRNA sekvencí do jednotlivých druhů? Z kontextu mám pocit, že tak nějak arbitárně a bez zvažování dalších interpretací. Mohla by autorka navrhnout alternativní postup? Uvažovala autorka možnou existenci SSU rRNA paralogů u jednotlivých jedinců? Ta by totiž výrazně narušila prezentovaný scénář.

2. V textu chybí zdůvodnění vytvoření dvou různých datasetů, které se navíc výrazně liší topologií studované skupiny parazitů (obr. 14 a 15 vs obr. 16). Také celkový počet vyšetřených a osekvenovaných vzorků mi přijde poměrně malý a na hranici mezi magisterskou a bakalářskou prací. Je možné, že autorka odvedla mnohem více práce, z textu to však není zřejmé.

Diskuze je poměrně detailní, srozumitelná a logicky vystavěná. Autorka se nebojí spekulovat. Zbytečně ji však omezuje pouze na prezentovaná data a neuvádí porovnání se studii na dalších zástupcích myxozoi, zejména týkajících se vnitrodruhové variability a také hostitelské specifity. Jinými slovy, chybí mi výraznější zařazení vlastních výsledků do kontextu již publikovaných prací. Měl bych také jednu konkrétní otázku: Autorka označuje druh *Ceratomyxa* sp. 7 za evolučně nejodvozenější, jak k takovému zjištění došla? Z prezentovaných fylogramů, dle mého názoru, nic takového neplyne.

Celkově se jedná o kvalitně zpracovanou studii, která je však, soudě dle prezentovaných výsledků, poměrně malá rozsahem odvedené práce a chybí dostatečné zdůvodnění závěrů. Známkou ji ohodnotím až po shlédnutí obhajoby, zatím se kloním spíše ke dvojce.

V Českých Budějovicích, 19. května 2016



Aleš Horák