



BIOLOGICKÉ CENTRUM Akademie věd České republiky, v.v.i.

Parazitologický ústav

Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika
Telefon 38-777 5403; Fax 00420-38-53 10 388

Oponentský posudek na bakalářskou práci **Davidu Novotného:**

Životní cyklus a diverzita motolic čeledi Opecoelidae na Svalbardu

Cílem bakalářské práce bylo na základě molekulárních a fylogenetických analýz popsat diverzitu a objasnit životní cyklus motolic (Digenea) parazitujících dva druhy mořských vrankovitých ryb (*Myoxocephalus scorpius* a *Gymnocanthus tricuspis*) jako definitivní hostitele a předožábré plže jako první mezihostitele, kteří se běžně vyskytují v litorálních vodách Svalbardu.

Celkem bylo odchyceno 28 ryb a 49 jedinců plžů, a to převážně rodu *Buccinus* (*B. undatum*, *B. glaciale* a *Plicifusus kroeyeri*), z nichž pouze *B. undatum* a jeden jedinec *P. kroeyeri* byli pozitivní na přítomnost larválních stádií motolic (sporocysty a cercárie). Část vzorků dospělců motolic byla vybrána pro barvení Schubertovým karmínem a zhotovení trvalých preparátů pro pozdější morfologické studie a další část vzorků dospělců z ryb a larválních stádií z jednoho druhu plže *B. undatum* byla použita pro molekulární fylogenetické analýzy. Výsledky analýz celkem 19 vzorků motolic ukázaly přítomnost tří druhů motolic dvou fylogeneticky značně vzdálených čeledí: Opecoelidae a Fellodistomidae, přičemž u dvou motolic čeledi Opecoelidae byl částečně objasněn životní cyklus: *Podocotyle atomon* (parazit *M. scorpius* a *B. undatum*) a *Anomalotrema koiae* (parazit *G. tricuspis* a *B. undatum*). Třetím druhem je *Steringoporus furgicer*, který byl zjištěn pouze u jednoho druhu vranky (*G. tricuspis*) a patří do čeledi Fellodistomidae.

Téma bakalářské práce je zajímavé a získané výsledky nepochybně přispívají k pochopení strategií přenosu motolic v extrémních podmínkách arktických oblastí, obzvláště v případě prvních nálezů v daných hostitelích. Student dozajista cíle splnil a věřím, že se upřímně snažil v problematice i literatuře zorientovat. Avšak zpracování této práce ukazuje na sepisování ve velkém spěchu, což bohužel mělo za následek sníženou schopnost vystihnout podstatná fakta problematiky a dát je do patřičných souvislostí. I přes nedostatky kapitol týkajících se metodiky a výsledků, považuji tyto části za jediné zdařilé v celé práci. Je zřejmé, že student měl pouze krátký časový limit na zpracování výsledků a samotné sepsání práce, ale přesto to jistě není omluvou pro velké množství chyb, které se v práci nachází, a to nejen formálních, ale i faktických. Moje první otázka zní, **jak dlouho student pracoval na bakalářské práci, včetně zpracování materiálu, a zda práci řádně konzultoval se svým školitelem?**

Největší výhrady se týkají úvodu a diskuse, a to nejen jejich obsahu, ale i vyváženosti. Úvod je rozdělen do 11 podkapitol a 19 stran, zatímco diskuse zaujímá pouze málo přes 2 strany.

Teoretická část je zbytečně dlouhá až rozvleklá, protože je zatížená nepodstatnými informacemi, které nesouvisí s tématem práce (např. detailní popis orgánových soustav nejen motolic, ale Neodermat obecně). Podkapitola 1.5 Fellodistomidae je velkým překvapením hlavně proto, že neodpovídá názvu práce. Teprve později v metodice je objasněno, proč se student zabývá i touto skupinou motolic a až v diskuzi je uveden důvod, který je ovšem vágní (str. 35, první odstavec). Obecně to působí dojmem, že student tuto čeleď zahrnul zpětně, protože mu to tak „vyšlo a tyto motolice prostě našel“. Tomuto problému by se dalo jednoduše předejít změnou názvu bakalářské práce.

Celkové členění kapitol je neuspořádané a působí tak chaotickým dojmem. Například celá podkapitola 1.6. Hostitelé motolic čeledi Opecoelidae na Svalbardu by měla být součástí podkapitoly 1.4. Opecoelidae. Dále, detailní výčet jednotlivých taxonů digenetických motolic a jejich stručná charakteristika v podkapitole 1.3. Fylogeneze motolic je též zbytečný. Domnívám se, že krátké shrnutí současných poznatků do 2 až 3 vět by bylo postačující a student se tak mohl soustředit pouze na fylogenezi čeledí nalezených motolic na Svalbardu.

Za největší nedostatek teoretické části považuji nedostatek základních informací, který by poskytl vhled do problematiky tématu práce. Jedná se o detailní popis nejen zkoumané oblasti, ale polárních či subpolárních oblastí jako takových, čím se vyznačují, jaká je tam biodiverzita a faktory, které ji ovlivňují, ale především chybí zmínka o současné znalosti parazitofauny, diverzitě motolic a významu jejího studia včetně životních cyklů právě v těchto oblastech. Student shrnuje popis oblasti Svalbardu v jednom odstavci a dále uvádí: “V neposlední řadě také nesmíme zapomenout na parazity obývající předešle vyjmenované skupiny živočichů“ (str. 2), ale informace o jaké parazity se jedná, chybí.

Kapitola 2. Cíle práce jsou jasně definované a srozumitelné.

Kapitola 3. Materiál a metody a kapitola 4. Výsledky jsou napsány vcelku přehledně, odpovídají cílům práce a použité analýzy jsou adekvátní k typu práce a vytyčeným cílům. Avšak, není mi jasné, proč student investoval energii do barvení motolic a vypracování trvalých preparátů, když tento materiál **nebyl dále použit pro morfologické nebo morfometrické analýzy**. Je škoda, že preparáty dospělců druhu *Podocotyle atomon*, které se podle předložené fotografické dokumentace zdají být zdařilé (Obr. 7), nebyly použity pro srovnání a identifikaci dospělců téhož druhu neulezeného ve stejných hostitelích na Svalbardu v dřívějším výzkumu Ondřeje Otáhal (bakalářská práce z roku 2015). **Proč tomu tak nebylo učiněno?** Bez podobných analýz postrádá tato část práce význam a mohla být v celé práci opomenuta.

Student uvádí, že většina vzorků, které byly použity ve fylogenetické analýze, pochází ze sběrů z roku 2018, kterých se sám zúčastnil. V případě motolic Opecoelidae se jedná o 9 vzorků z *M. scorpius*, 2 z *G. tricuspis* a 3 z *B. undatum* (Obr. 8), ale v Tabulce 3 (Přehled nově získaných sekvencí DNA motolic čeledi Opecoelidae ze Svalbardu) je uveden vyšší počet vzorků z ryb (11, 4). Navíc pocházejí z jiných lokalit, než je uvedeno v současné práci. **Není tedy jasné, které vzorky z jakých let sběrů byly ve skutečnosti použity pro analýzu příbuzenských vztahů. Proč nebyly použity všechny sekvence všech vzorků uvedených v Tabulce 3? Byly použity i nějaké vzorky z předchozích sběrů z let 2010, 2011, 2014, a pokud ne, z jakého důvodu?**

Podkapitola 4.3. Fotografická dokumentace, která obsahuje pouze fotografie obarvených dospělců motolic z ryb a larvální stádia z plže, není vhodně umístěna a celkově není běžné fotografickou dokumentaci mít v práci jako samotnou podkapitolu.

Kapitola 5. Diskuze je podle mého názoru velmi stručná (2 strany textu). Student opět popisuje výsledky výzkumu, chybí porovnání s poznatky z literatury nebo přinejmenším není poskytnuto odůvodnění, proč tomu tak není. Většinou porovnává získané výsledky se záznamy z databáze WoRMS, ale již neuvádí, z jakých oblastí tyto záznamy pochází. Chybí zde porovnání diverzity motolic zkoumaných čeledí nebo přímo nalezených druhů motolic ze Svalbardu s polárními a subpolárními oblastmi či jinými oblastmi světa, i přesto, že je uveden seznam druhů motolic nebo jejich rozšíření i v klimaticky podobných oblastech jako je Island, Grónsko, Skandinávie nebo Kanada. Domnívám se, že seznam druhů motolic z dřívějších záznamů společně se současnými záznamy ze Svalbardu v přehledné tabulce by měl větší výpovědní hodnotu, než údaje zmiňované v různých kapitolách práce. **Prosím o doplnění.**

V teoretické části student uvádí, že korýši rodu *Gammarus setosus* byli experimentálně potvrzeni jako druzí meziphostitelé motolic čeledi Opecoelidae (Otáhal 2015) a tyto motolice obecně parazitují široké spektrum korýšů řádu Amphipoda, ale jakákoliv spekulace o jejich

roli druhých mezihostitelů v souvislosti s nalezenými motolicemi v diskuzi chybí. Dále nejsem zcela přesvědčena o hostitelské specifitě nalezených motolic u ryb, která je podle studenta zapříčiněna jejich preferencí odlišných biotopů (kamenité podloží vs bahnité dno), které jsou zároveň charakteristické rozdílným výskytem jiných druhů živočichů. Domnívám se, že pro potvrzení takového výroku je potřeba většího množství ryb. Navíc není uvedeno, zda se **oba druhy ryb opravdu na všech sbíraných lokalitách vyskytují odděleně.**

V práci se objevuje nespočetné množství formálních a editačních a faktických chyb. Jen namátkou:

Zdvojené tečky na konci věty; příklady v závorkách se zpravidla neznačí třemi tečkami, ale slovem „např.“ nebo „atd.“; podkapitola 1.6. v obsahu je špatně citována; Rózycki (1993) neuvádí pitevní protokoly pro ryby, ale pro měkkýše (str. 2); jiná velikost písma v textu (např. str 2, Ehlers, 1985). Student uvádí: “Ve vajíčku se ve vnějším prostředí či přímo v prvním mezihostiteli (např. Schistosomatidae) vyvíjí larva miracidium“ (str. 4), což není pravda, stejně jako, že: “U cercárií se už také nacházejí jak samčí, tak samičí pohlavní orgány“ (str. 5). Špatné formulace a překlady: např. “cercárie, které poté unikají aktivně či pasivně z prvního mezihostitele“; dceřiny sporocysty (str. 4) či penetralní žlázy (str. 6). Obecně v celé práci postrádám málo citovaného textu, kdy chybí citace za důležitými sděleními, např. “Druhým mezihostitelem se na základě zmíněného experimentu a odborné literatury potvrdilo široké spektrum koryšů řádu Amphipoda“ (str. 17). Některé citace chybí v textu i v seznamu literatury úplně (ca. 10 publikací) nebo jsou špatně citovány, např. více prací od jednoho autora se zpravidla označuje písmeny “a, b, c” (konkrétně se jedná o 3 publikace Martin et. al. 2018, které jsou citovány v textu jako Martin, Sasal et al. 2018 atd.). Obrázky jsou řazeny špatně, protože se zásadně začíná obrázkem 1, ale zde je první obrázek č. 12 (str. 4), pak 2 a poté teprve 1. Přílohy 7 a 8 (tabulky o přehledu sekvencí motolic získaných z databáze Genbank) mohly být součástí hlavního textu výsledků.

Na závěr mám k předložené bakalářské práci několik otázek:

- 1) V obecném úvodu (str. 1) student zmiňuje: “...paraziti hrají nezastupitelnou roli v ekologii celého společenstva či ekosystému, a že nejlépe lze tuto roli studovat v oblastech s nízkou druhovou diverzitou organismů, jelikož zastoupení jakéhokoliv druhu má na okolní společenstvo výraznější vliv. Předpokládá se zde nižší míra rušivých elementů ovlivňujících výsledky studie“. **O jakou roli v ekologii společenstev a o jaké rušivé elementy se konkrétně jedná?**
- 2) Student uvádí, že motolice sídlí primárně v trávicím traktu obratlovců. **Mohl by student uvést i jiné příklady?**
- 3) Student uvádí, že při vyšší infekci může jediný napadený první mezihostitel produkovat až tisíce cercárií denně. **Platí toto tvrzení obecně u všech digenetických motolic?**
- 4) **Jak se odborně nazývá skutečnost, kdy motolice kastrují svého prvního mezihostitele a ten investuje energii do somatického růstu místo do vlastního rozmnožování?**
- 5) **Může se v životním cyklu digenetických motolic vyskytovat i jiné larvální stádium než miracidium, sporocysta, redie, cercárie a metacercárie?**
- 6) **Z jakého důvodu byl získán tak nízký počet plžů (pouze 49 jedinců?). Proč nebyli sbíráni i další druhy plžů vyskytujících se v litorálních vodách Svalbardu?**
- 7) **Proč nebyl sekvenován vzorek larválních stádií motolic, který byl získán z jediného infikovaného plže *P. kroeyeri*?**
- 8) **Z jakého důvodu se chce student v budoucí práci zaměřit na analýzu genu CO1, když sám v metodice uvádí, že u současných vzorků byly vybrány geny 28S rDNA a ITS?**
- 9) **Jak si student vysvětluje blízkou příbuznost izolátu dospělce motolice *Steringophorus furciger* (Fellodistomidae) z ryb ze Svalbardu se vzorky z platýze z Velké Británie?**

- 10) Které druhy potenciálních druhých mezipřehostitelů můžeme očekávat na Svalbardu pro zjištěné 3 druhy motolic?
- 11) Student v diskusi uvádí: „Také zde nastává problém, že se v této práci opomíjí fakt, že osekvenované motolice by mohly ve skutečnosti být motolice ryb, které byly pozřeny zkoumanou vrankou. Nejčastěji nacházenou potravou vranek byli korýši, menší jedinci vlastního druhu či jiné ryby nejčastěji druhu *Lumpenus lampretaeformis* (Stichaeidae). Z toho důvodu byly poté výsledné druhy motolic porovnány s daty v databázi WoRMS, které buď potvrzovaly výskyt u stejného druhu hostitele, jako byl nalezen v rámci této práce na Svalbardu (platí pro *P. atomon* a *S. furciger*) či u jeho příbuzných druhů (platí pro *A. koiae*). **Do jaké míry je pravděpodobnost nákazy zkoumaných definitivních hostitelů – ryb po konzumaci jiných druhů ryb nakaženými stejnými druhy motolic?**
- 12) **Jaký má student názor na diverzitu motolic ze Svalbardu na základě poznatků z literatury co se týče přímo Svalbardu či jiných oblastí z polárních a subpolárních oblastí a obecného předpokladu, že jsou tyto ekosystémy druhově chudé?**

Obligátní otázka, **zda student hodlá ve výzkumu pokračovat a jakým způsobem?**

I přes uvedené připomínky, cíle práce byly splněny, metodiku a výsledky považuji za kvalitní a proto doporučuji předkládanou práci k obhajobě s prozatím odloženým vyjádřením klasifikačního stupně, který se bude odvíjet od studentovy obhajoby a odpověďmi na výše uvedené dotazy a připomínky.

V Českých Budějovicích, 12. 5. 2019



Mgr. Miroslava Soldánová, PhD