



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 **Terezy Flegrové**, studentku Přírodovědecké fakultě JU na téma „**Analýza populační struktury parazita *Dicyema moschatum* v hostiteli *Eledone moschata* pomocí mikrosatelitních markerů**“.

Bakalářská práce se zabývá populační strukturou málo známé skupiny parazitů - Dicyemida. Práce obsahuje poměrně podrobný úvod zaměřený na biologii a spektrum parazitů chobotnice pižmové a dále na biologii a systematiku dicyemidů. Zbytek práce se zabývá vlastním tématem práce a to vytipováním vhodných mikrosatelitních lokusů, jejich testováním a nakonec analýzou dvou populací *D. moschatum*.

Cíle práce byly dosaženy i když je výsledný dataset vzorků i lokusů poměrně malý. To však není chybou autorky, ale následkem "vyšší moci" přírody.

Celkově jsem s prací spokojen, ale mám několik dotazů a kritických připomínek:

1. Jaké jsou druhové hranice u skupiny Dicyemida, popřípadě jak jste je stanovili? Jak si můžete být jisti že jste pracovali s *D. moschatum* a ne s *D. eledones* či jiným doposud nepopsaným druhem? Jak se tyto dva druhy odlišují? Proč stručné popisy spolu s geografickým rozšířením a hostitelským spektrem těchto zástupců v práci chybí?
2. Kapitola 1.1.5 Parazit je velmi povrchní. Bývá zvykem oddělit larvální stádia parazitů od dospělců, případně zmínit jejich lokalizaci v hostiteli. V kapitole je uvedena pouze jedna práce (Hochberg, 1983) ze kterého tento seznam není možné vytvořit. Zahrnuje tento seznam pouze parazity nalezené v *E. moschata* nebo i v jiných druzích rodu *Eledone*? Z jakého zdroje studentka tedy čerpala? U *Orygmatoscolex pusillum*, *Phyllobothrium pusillum* se nejedná o platné taxony. Podařilo se mi vypátrat popis pouze *O. pusillum* Diesing, 1854 a ze předpokládat že *P. pusillum* je jeho synonymem. Podobně *Scolex pleuronectes* je "collective group" pro neurčitelné larvy několika řádů tasemnic a nejedná se o jednotlivé platné druhy (viz Jensen a Bullard 2010). Je možné, že všechny tyto taxony představují jen jeden nebo dva platné druhy. Takže v tomto případě by mělo být uvedeno pouze "plerocerkoidy tasemnic (*Scolex pleuronectes*)". Naopak potvrzeným nálezem je *Nybelinia lingualis* (zástupce řádu Trypanorhyncha lze identifikovat i ve stádiu larvy – viz Palm a Walter 2000). Nález *Acanthobothrium* sp. z tohoto hostitele jsem v literatuře nenašel a i zde bych byl velmi opatrný s rodovou identifikací a uskomnil bych se také se zařazením *S. pleuronectes*. *Ascaris moschata* je opět velmi pochybné staré jméno a pravděpodobně se bude jednat o larvy rodu *Anisakis*, které byly nalezeny u *E. cirrhosa* (viz Pascual a kol. 1996). Z *E. cirrhosa* byl popsán také *Dicyemennea lameerei* Nouvel, 1883. Tento druh není v práci vůbec zmíněn. Jak se liší od ostatních zástupců z *E. moschata*?
3. Jak je to tedy podle autorky s parazitismem u dicyemidů a proč? Jedná se spíše o komenzalismus? V textu se vyskytují oba termíny.

4. Jaká je představa studentky o životním cyklu dicyemidů, konkrétně jak dochází k nákaze hlavonožců a zda může v cyklu figurovat mezihostitel. V diskuzi autorka uvádí, že k infekci hlavonožců dochází pravděpodobně více než jednou (P20). Pokud je však prevalence v některých oblastech až 100%, musí docházet k nákaze v raném věku hostitele. Jaký je na to autorčin názor?
5. P7 "To značí, že jsou během vývoje schopni adaptovat se v závislosti na hostiteli; takováto morfologická plasticita se zdá být u parazitů běžná (Nolte et al., 2010)." Tohle je velmi odvážné tvrzení a je podloženo pouze jednou prací a ta se tohoto vůbec netýká. Naopak většina mnohobuněčných parazitů nemění svou morfologii v závislosti na hostiteli! Například u platyhelmitů je morfologie dospělců shodná z různých hostitelů, včetně jejich přichycovacích orgánů. Pokud by to tak nebylo, nemohli bychom parazity určovat na základě morfologie.
6. P7 "Primárním úkolem parazita je pak nalézt svého hostitele; v případě moře a oceánu se jeví být výhodnou strategií být parazit generalista..." Tak to ale rozhodně neplatí. Teoreticky je být generalistou výhodné ve všech ekosystémech, ale v reálu je většina mnohobuněčných parazitů specialisty.
7. Není jasné, zda se studentka podílela na sběru materiálu. V úvodu práce jsou uvedeny jen dvě fotky dicyemidů z *E. moschata* (Obr 3 a 4) a u Obr 3 je v legendě identifikace *Dicyemida* sp. (navíc bez udání lokality, případně čísla vzorku). Ve výsledcích není vysvětleno jak byly vzorky určeny do druhu a za byly nalezeny směsné infekce.
8. Kapitola 3.3 Ověření druhu hostitele a parazita. "Druh chobotnice byl ověřen pomocí genetického markeru cytochromoxidázy I..." Jednalo se o nějaký Multiplex PCR test nebo o sekvenaci daného úseku a srovnáním s údaji v genové bance? Není vysvětleno. U dicyemidů to také není jasné. *Dicyema moschatum* nemá žádný referenční údaj v Genové bance.
9. P19 "Z výsledků jasně vyplývá, že dicyemidé jsou diploidními živočichy (přítomnost heterozygotů) a že v rámci infrapopulací se nenacházejí pouze klony..." To je velmi zajímavé, ale není jasné zda se jedná o nový poznatek z této práce, či potvrzení již předchozích studií. Existuje teorie jak dochází u sépijovek k pohlavnímu rozmnožování (výměně pohlavních buněk) mezi jedinci?
10. V diskuzi autorka zmiňuje "biological tags" a jejich využití u dicyemidů. Není však snadnější pro populační studie hostitele využít mikrosatelitů přímo hostitele než obtížně studovatelných a málo známých dicyemidů?

K **formální stránce** mám několik doporučení a připomínek. Text je napsán celkem zdařile, vyskytuje se jen malé množství formulačních nepřesností či nevhodných formulací (jako například: P2 "Je považována za „sociální“ chobotnici, tedy druh který se navzájem druzí více...". Nebo P19 "...studium dicyemidů po molekulární stránce je stále v plenkách...")

- 1) Obrázky a tabulky nejsou odděleny od vlastního textu práce mezerou a tak legendy splývají s textem. Proč jsou obrázky číslovány arabskými číslicemi a tabulky římskými? Dále legendy k obrázkům a tabulkám mají být samo vysvětlující, včetně názvů organismů, což ve většině případů nejsou (např. "Obr. 7: Barevné vyobrazení genotypů přítomných napříč datasetem (první sloupec vyjadřuje hostitele; bílá znázorňuje chybějící data" nebo Obr. 9: "Graf AMOVA vyjadřující procenta molekulární variance na různých populačních úrovních.")

- 2) P2: "*E. moschata* se navzdory svému perfektnímu zraku spoléhá spíše na hmatovou informaci, a to kvůli šeru v hloubkách, které běžně obývá (Mather, 1985)." Chobotnice má zejména noční aktivitu, takže nezáleží tak na šeru hloubce.
- 3) Latinská jména organismů mají být vždy, když se poprvé v textu objeví, doplněna autory. To schází zejména na P3-4.
- 4) Kapitola 1.2. Dicyemidaé. Zde bych použil krásné české jméno "sépijovky". Chybí také často užívaný název podkmene "Rhombozoa".
- 5) "calotte" lze přeložit do češtiny jako čepička.
- 6) P4 "Druhů je uváděno 112, nicméně kvůli nedostatečné dokumentaci a nepřesnému popisu některých druhů není jasné, zda některé druhy nejsou uváděny pod více názvy, či zda vůbec existují (Catalano, 2012)." Velmi krkolomná věta. Z pohledu systematiky stačí jednoduše napsat "Doposud bylo popsáno 112 druhů, ale některé popisy druhů jsou nekompletní či nepřesné a mohou tak představovat synonyma." Dále se pak píše "V úvahu je však potřeba vzít i možnou existenci tzv. kryptických druhů, které jsou morfologicky neodlišitelné, nicméně geneticky odlišné (de León et al., 2019)." Pokud u dicyemidů nemáme vyřešené druhové hranice ani na úrovni morfologie, nemůže být o kryptických druzích řeč!
- 7) P4 "Dicyemidé využití v této práci (obrázek 4) patří ke druhu *Dicyema moschatum* (Whitman, 1883)..." Autor taxonu v tomto případě nemá být v závorce! Víte proč?
- 8) Citace v českém textu se pzravídal píší česky, tedy ne Eshragh & Leander, 2014; Eshragh et al. 2014, ale Eshragh a Leander, 2014; Eshragh a kol. 2014. V tomto případě je zde i chyba, protože v seznamu literatury je pouze jedna práce a to Eshragh a Leander, 2014. Citace se v textu řadí podle roku a ne autora jako například na P7 "Hochberg 1990, Lapan 1975".
- 9) P10 "(Drábková et al., in review)" Toto je velmi nezvyklá citace. navíc není ani v seznamu literatury. Pokud není práce přijatá do tisku nebo vyšlá, jedná se o nepublikované údaje.
- 10) P20 "... naše populace jsou od sebe značně vzdáleny..." To není úplně tak pravda s ohledem na rozšíření hostitele je to "kousek".
- 11) Seznam citované literatury obsahuje velké množství formálních chyb (téměř v každé je chyba) a působí tak velmi nekonzistentně. Například názvy článků jsou někdy s velkými prvními písmeny v každém slově či názvy časopisů nejsou vždy celé ale někdy ve zkratkách. Latinské jména organismů nejsou kurzívou. Autoři nejsou vždy vypsáni všichni (viz Krstulović Šifner, S. et al.). Některé práce jsou v seznamu 2x (Suzuki et al. 2010) a spousta dalších chyb.

Závěrem, i přes velké množství dotazů a připomínek **vřele doporučuji předkládanou práci k obhajobě.**

Literatura:

Jensen K, Bullard SA 2010. Characterization of a diversity of tetraphyllidean and rhinebothriidean cestode larval types, with comments on host associations and life-cycles. Int J Parasitol. 40: 889–910.

Palm HW, Walter T 2000. Tentaculariid cestodes (Trypanorhyncha) from the Muséum national d'Histoire naturelle, Paris. Zoosystema 22: 641–666.

Pascual S. et al. 1996. Parasites in commercially-exploited cephalopods (Mollusca, Cephalopoda) in Spain: an updated perspective. Aquaculture 142: 1–10.

Doc. RNDr. Roman Kuchta, PhD.

V Českých Budějovicích, 14.5. 2019

