

Úkolem diplomantky bylo přispět ke znalosti evoluce archaméb, relativně malé skupiny amebám, či ameboflagelátům podobných organismů patřících do superříše Ameobozoa. Archaméby jsou z hlediska fylogeneze zajímavé, protože někteří jejich zástupci opustili pro ně typické anaerobní či mikroaerofilní prostředí ve volné přírodě a obsadili fyziologicky podobné prostředí ve střevním traktu některých živočichů, člověka nevyjímaje. Na druhé straně jsou archaméby příbuzné hlenkám, významným a hojně rozšířeným amébovým organismům, kteří jsou významnými rozkladači organické hmoty v přírodě. Archaméby jsou zajímavé i z hlediska buněčné organizace a z hlediska vlivu životního stylu na tuto organizaci. Archaméby modifikovaly hluboce své buněčné organely (redukovaný Golgi, redukované mitochondrie) bičík (y) některých archaméb mají modifikovanou strukturu, podpůrný cytoskeletální aparát zvláštního typu je rovněž modifikován až chybí, některé archaméby ztratily bičíky i cytoskelet jejich cytoplasmatické organely jsou redukovány k nepoznání a jsou identifikovatelné spíše biochemicky a génově než morfologicky. Všechny tyto skutečnosti diplomantka vysvětluje vyčerpávajícím způsobem v úvodních kapitolách práce.

Konkrétním úkolem diplomantky bylo shromáždění dostatečného počtu izolátů volně žijících archaméb, morfologicky je charakterizovat světelnou i elektronovou mikroskopií a zjistit jejich fylogenetické vztahy pomocí metod molekulární fylogeneze. Jedná se o poměrně náročné úkoly, protože archaméby nelze úplně jednoduše pěstovat v axenických kulturách což má technický dopad i na přípravu materiálu pro elektronovou mikroskopii a izolaci DNA.

Diplomantka tak musela zvládnout základní kultivační techniky anaerobních protozoí, základní techniky světelné a elektronové mikroskopie, izolace DNA, PCR a v případě směsných vzorků také klonování DNA. Získané sekvence pak diplomantka použila pro sestavení fylogenetických stromů metodami ML a MrBayes.

Vzorky biologického materiálu, které měla diplomantka k dispozici pocházely z nejrůznějších sladkovodních a mořských bahenních prostředí v řadě světadílů. Celkem bylo získáno 42 izolátů. Mikrofotografická dokumentace a popis morfologie ve světelném mikroskopu zahrnuje 24 izolátů, elektronová mikroskopie byla použita pro studium 4 vybraných izolátů a molekulární fylogenetika zahrnuje 25 izolátů, případně izolátových klonů.

Jaké jsou přínosy oponované práce? Některé přínosy jsou metodické (zvládnutí kultivace - dnes je na pracovišti k dispozici ojedinelá sbírka 39 a 3 mořských archaméb-, zvládnutí izolace DNA ze směsných kultur), jiné výsledky přispívají k poznání diverzity protist v extrémním prostředí anoxie či mikroaerofilie, a k racionální klasifikaci archaméb. Významným přínosem práce je, že umožňuje další vhled do evoluce archaméb: v práci je diskutována pravděpodobná organizace buňky ancestrálního typu archaméb, vliv parazitizmu na ztrátu bičíku, konstatuje se, že archaméby jsou monofyletický taxon (dosud se o tom pochybovalo), tvoří 5 fyloskupin s nejasnými vzájemnými vztahy. Nezanedbatelnou a velmi důležitou skutečností, kterou rozhodně při hodnocení práce nelze opominout je, že sebrané izoláty a získaná data představují další výzkumný potenciál. Ve sbírce je tak několik organismů, jejichž studium si rozhodně zaslouhuje mimořádnou pozornost (*Breviata* sp. v izolátu EVROS2N, izolát IND8 představující pravděpodobně nový rod archaméb).

Kritické připomínky k práci. V práci se konstatuje, „U *Entamoeba moshkowskii* nebyl nalezen žádný potencionální hostitel...“. Zaprvé: „potenciální“ je správné slovo. *E. moshkowskii* (správně má být psáno „*moshkovskii*“!) je měňavka nalezená a popsána v r. 1941 z odpadních vod v Leningradu. Je identická s organismem později nalezeným v lidském střevním traktu pacienta v Laredu (Texas, USA) a popsáným v literatuře jako *Entamoeba histolytica*, kmen Laredo (Clark a Diamond v r. 1991). Dnes víme, že *E. moshkowskii* se běžně vyskytuje v lidské populaci jako střevní symbiont, dokonce podezříváný jako původce lehkých průjemových onemocnění. Prací to konstatujících je řada (na př. Fotedar et al. Europ. J. Clin. Microbiol. and Inf. Dis. 27(2) 133-137).

V práci není žádná větší zmínka o encystaci volně žijících archaméb. To je s podivem, protože parazitické archaméby (r. *Entameba*) jasně demonstrují vztah mezi počtem jader v cystě a fylogenezí. Není tedy možné, že by obdobný vztah existoval i u volně žijících archaméb?

Na str. 9 je uvedeno:

„mikrotubulární koš vybíhá z basálního tělíska...“. Je to tak skutečně? Nebo tento koš vybíhá z mikrotubulárního organizačního centra v bezprostřední blízkosti kinetosomu?

V řadě případů se diplomantka pokusila jednotlivé archaméby v izolátech identifikovat, což se někdy zdařilo a některé izoláty tak nesou rodová a druhová jména. Podle mého názoru by bylo vhodné, aby práce v tomto ohledu respektovala pravidla zoologické nomenklatury a aby za názvy druhů následovalo jméno autora a datum popisu.

Z hlediska oponenta mám kritickou připomínku i k celkové organizaci diskuse. Ta mi připadá, hlavně v části “Identifikace rodů, Identifikace druhů, Evoluce archaméb málo organizovaná, při porovnávání morfologie, biologie a fylogeneze jednotlivých izolátů se čtenář velmi těžko orientuje a rychle se v textu ztratí a může mu tak lehce uniknout důležitá informace.

Jazykových připomínek bych mohl vznést velké množství. Podobně jako dnes ostatní studentské práce i tato je plná odborného žargonu (např. buňky mají posteriorní část a nikoliv koncovou, proteiny jsou targetované a nikoliv cílené), neobratných formulací poznamenaných slovní a větnou skladbou angličtiny a i některých gramatických chyb je v práci řada. To je zřejmě údělem doby, kdy mateřský jazyk zůstává prostředkem neprofesionální komunikace, a profesionální komunikace se orientuje na angličtinu a z ní odvozenou terminologii. Neměli bychom začít psát i diplomové práce rovnou v angličtině?

Závěrem konstatuji, že k obhajobě předložená práce odpovídá nárokům kladeným na diplomové práce a dokumentuje odborné kvality uchazečky a její schopnost samostatně vědecky pracovat. Vypracování si vyžádalo značné pracovní nasazení, k relativně širokému tématu posluchačka přistoupila odpovědně a získala cenné výsledky, otevírající cestu dalšímu poznání. Práci hodnotím jako výbornou diplomovou práci.

17. 5. 2010

Prof. Jiří Vávra, DrSc.
Katedra parazitologie PřF JU a
Parazitologický ústav AVČR