

Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Vladimíra Vrby „Uplatnění metod molekulární a buněčné biologie ve výzkumu prvoků *Eimeria*“

Předložená dizertační práce Mgr. Vladimíra Vrby se zabývá ekonomicky významnými drůbežími kokcidiemi. Experimentální práce probíhaly na proslulém pracovišti Biopharm, kde byla před lety vyvinuta dnes široce používaná metoda vakcinace drůbeže, a v souladu s tím spadá větší část výsledků do aplikované parazitologie. Ačkoli drůbeží kokcidie rodu *Eimeria* způsobují celosvětově významné ekonomické ztráty a jsou intenzivně studovány, řada otázek týkající se jejich diverzity, a tím nutně i možností jejich diagnostiky a profylaxe kokcidióz, nebyla dosud uspokojivě vyřešena. Situace je komplikována i tím, že jeden hostitel je často nakažen více druhy eimerií.

V úvodní kapitole autor na čtyřech stranách stručně představuje metody determinace kokcií a zabývá se druhy eimerií kuřat a krůt. Stejně jako následující části je úvod psán v angličtině. Ačkoli je na každé stráně možno najít několik gramatických chyb (jejich výčet zde neuvádím), nesnižuje to přehlednost textu. Po definování cílů, které si práce klade, následují tři kapitoly (dohromady devět stran) komentující příložené publikace. Takováto organizace dizertační práce mi připadá neobvyklá a ze tří komentářových kapitol se čtenář dozví vlastně totéž co z příložených publikací. Na druhou stranu si výsledky více vryje do paměti. Text je zakončen jednostránkovým shrnutím a seznamem použité literatury. V práci je chybně použito několik termínů, jako parazitémie ve smyslu počet parazitů ve střevě (např. str. 18), 18S ve smyslu 18S rDNA apod.. Ze str. 20 zase vyplývá, že autor predikoval sekundární strukturu celé malé ribosomální podjednotky, což je téměř nadlidský úkol.

Hlavní částí práce jsou tři příložené články publikované ve vlajkových parazitologických časopisech *Parasitology* a *Veterinary Parasitology* (IF = 2,5 a 2,3). Již na první pohled mile překvapí nízký počet autorů všech publikací (3, 3 a 2), který svědčí o tom, že Mgr. V. Vrba se pod vedením zesnulého Ing. Poplštejna zásadním způsobem podílel jak na získávání dat, tak na sepisování rukopisů. Z publikací je také patrné, že si osvojil řadu parazitologických, mikrobiologických, molekulárně-biologických a molekulárně-fylogenetických metod. Experimentální zpracování je precizní, autoři se zajistili řadou kontrol a neopakovali chyby svých předchůdců, jako je např. analýza nedostatečného počtu klonů. První publikace, ve které autoři vyvinuli spolehlivou metodiku diagnostiky a kvantifikace všech sedmi „dobrých“ druhů kuřecích eimerií, považuji za nejvýznamnější a předpokládám,

že rychle nasbírání veliký počet citací (již se tak děje). Bez nadsázky lze říci, že tato publikace posunuje významnou problematiku kuřecích kokcií o veliký kus dopředu. I další dvě publikace jsou kvalitní. Ve druhé publikaci autoři objevili vnitrogenomový polymorfismus genu pro SSU rRNA. Tento objev, pokud se v budoucnu potvrdí na více izolátech, povede mj. k tomu, že *Eimeria mivati* bude synonymizována s *E. mitis*. Podobně zajímavý je objev výrazného vnitrodruhového polymorfismu v morfologii oocyst (3. publikace), který by v budoucnosti mohl vést k revizi názorů na důležitost oocyst pro determinaci kokcií.

K práci mám následující otázky a připomínky:

1. V názvu práce se objevují metody buněčné biologie. Mohl by autor specifikovat, které konkrétní metody má na mysli?
2. Jakým způsobem bylo zjištěno, že se diagnostické sekvence použité v první publikaci vyskytují v genomu pouze v jedné kopii? Jednalo se vždy o nekódující sekvence?
3. Pokud byly zkoumány nekódující sekvence, jaké byly výhody použití algoritmu tBLASTx?
4. Autoři druhé publikace se přiklání k možnosti, že dvě varianty SSU rDNA sekvencí lze lépe vysvětlit vnitrogenomovým polymorfismem, spíše než nedávnou hybridizací dvou blízké příbuzných druhů. Z toho by opravdu plynulo, že *Eimeria mivati* je synonymem k *E. mitis*, nikoli validním druhem. Důvody ke svému rozhodnutí však autoři blíže nerozvádějí. Co je k tomu vedlo? Jak by se dala jejich hypotéza testovat a rozhodnout tak, která z možností je pravděpodobnější?
5. Bylo rozhodnutí, že izoláty KR a KCH (třetí publikace) jsou konspecifické, pouze arbitrární? Podle v současné době nejpoužívanějšího druhového konceptu kokcií bych se přikláněl spíše k tomu, že se jedná o dva blízké příbuzné druhy. Pokud by KR a KCH byly opravdu konspecifické, byl by vnitrodruhový polymorfismus ITS regionu *E. adenoides* 0.33. Jaký bývá tento polymorfismus u „dobrých“ blízké příbuzných druhů eimerií? Byly činěny pokusy o hybridizaci KR a KCH? Pokud ne, jakou morfologii oocyst by autor (který zjevně předpokládá, že tyto izoláty mohou hybridizovat) očekával u hybridů?

Závěrem konstatuji, že Mgr. Vladimír Vrba prokázal schopnost kvalitní vědecké práce. Předložená práce obsahuje parazitologicky významné publikace a podle mého názoru splňuje požadavky kladené na dizertační práce. Proto ji s radostí doporučuji k obhajobě.

RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.

Katedra zoologie PřF UK

Viničná 7

128 44 Praha 2