

Posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Kateřiny Krížové „Morfologická a fylogenetická charakterizace tetratríchomonád skupiny A“

Zástupci rodu *Tetratríchomonas* jsou v současnosti nejčastěji nalézané střevní trichomonády. Vyskytují se v široké škále obratlovců a v některých bezobratlých, jeden druh je i volně žijící. Význam tetratríchomonád spočívá i v tom, že, přestože se obvykle jedná o střevní komenzály, nejméně tři druhy byly nalezeny v lidské dýchací soustavě, kde nejspíš fungují jako oportunističní patogeni. Není proto divu, že se rod *Tetratríchomonas* stal modelovou skupinou pro výzkum hostitelské specifity obratlovcích trichomonád. V roce 2006 bylo zjištěno (Cepicka et al., Mol. Phylogenet. Evol. 39: 542-551), že se rod *Tetratríchomonas* rozpadá na řadu (16, od té doby 4 přibyly) více či méně hostitelsky specifických linií a z předběžného průzkumu morfologie vyplynulo, že tyto linie nejspíš představují samostatné morfospecies. Nebylo však vyřešeno, zda se jedná o již popsané druhy, a pokud ano, o které. Vyřešit tuto otázku pro velkou skupinu tetratríchomonád označovanou jako skupina A bylo úkolem magisterského projektu Kateřiny Krížové. Projekt se dále zabýval tetratríchomonádami z ovcí, ze kterých dosud nebyla k dispozici molekulární data a o kterých se bylo lze na základě publikovaných morfologických studií domnívat, že se jedná o dva odlišné druhy.

Vzhledem k tomu, že v kryobance Katedry parazitologie PřF UK byla k dispozici řada kultur tetratríchomonád skupiny A získaných během řešení předchozích projektů, zaměřila se Kateřina především na ně. Většinu těchto kultur úspěšně vymrazila a resekvenací části SSU rDNA ověřila, zda se skutečně jedná o organismy, které byly pro danou kulturu uvedeny v katalogu. V jednom případě (PDOU7) ukázala, že kultura obsahuje trichomonády odlišné od těch, které v ní byly zjištěny v minulosti. Vymražené kultury barvila protargolem a zkoumala morfologii jejich buněk. K dispozici měla i sbírku preparátů tetratríchomonád vytvořenou v minulých letech. Kromě toho Kateřina získala a úspěšně kultivovala tři izoláty trichomonád z ovcí a jeden izolát z kozy. U trichomonád z kozy se ukázalo, že spadají do druhového komplexu *Tetratríchomonas gallinarum* (a tedy do skupiny B), trichomonády z ovcí patřily podle očekávání do skupiny A. Zde tvořily samostatnou linii. Fylogenetická analýza založená na sekvencích SSU rDNA a ITS regionu sice nedokázala odhalit přesnou fylogenetickou linii ovčích trichomonád, to se však dalo očekávat, již předešlé práce ukázaly,

že tyto dva úseky DNA nestačí k rozřešení fylogeneze rodu *Tetratrichomonas*. To však ostatně ani nebylo náplní magisterského projektu Kateřiny. Výstupem jsou zejména velmi kvalitní obrazové tabule shrnující morfologii devíti dostupných linií tetratrichomonád patřících do skupiny A a kozích tetratrichomonád. Kateřina zjistila, že jednotlivé linie se mezi sebou skutečně morfologicky liší a pokusila se některé z nich přiřadit k již popsaným druhům. Ostatní linie představují dosud nepopsané druhy. Zde je potřeba zdůraznit, že studovat morfologii trichomonád je velmi obtížné, protože se jedná o organismy s velmi malými, a přesto komplexními buňkami. Každou buňku je přitom možno pozorovat pouze z jednoho úhlu, což značně ztěžuje rekonstrukci složitého průběhu jednotlivých cytoskeletálních struktur. Předložená práce je po mnoha letech první podrobná morfologická studie trichomonád.

Ve druhém roce magisterského studia nedokázala Kateřina vinou časového vytížení v zaměstnání práci sepsat a stejně tak ji neodevzdala v jarním termínu třetího roku studia. Protože na jaře 2013 také nejevila známky sepisování práce, byl jsem velmi překvapen, když mi v srpnu, zhruba dva týdny před termínem odevzdání, poslala některé části své práce. Byl jsem zrovna v zahraničí na konferenci a po návratu jsem měl naplánovanou dovolenou, bylo mi tedy jasné, že nebudu schopen text příliš opravit. Upřímně řečeno jsem ani nepředpokládal, že by Kateřina byla schopná práci za dva týdny dokončit. K mému překvapení to stihla a přesto, že se jedná o ranou verzi, je její práce poměrně kvalitní a čtivá a neobsahuje mnoho závažných chyb. Největším problémem je, že Kateřina již nebyla schopna, pravděpodobně z časových důvodů, zohlednit nově vyšlé práce zabývající se rodem *Tetratrichomonas*. I tak hodnotím práci kladně a doporučuji hodnocení „velmi dobře“.

RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.