

Posudek doktorské disertační práce:

Název: Nutritional biology of synantropic mites (Acari: Acaridida)

Autor: Tomáš Erban

Předložená práce obsahuje soubor publikací, které se zabývají potravní biologii synantropních roztočů z fyziologického a biochemického úhlu pohledu. Publikační aktivita autora podle internetových scientometrických zdrojů činí 13 publikací s IF, H-index = 3. V předložených pěti pracích jde o srovnávací biochemii trávicích enzymů (lysozymu, alfa-glukozidáz a proteáz) a fyzikálně-chemických podmínek v trávicím traktu u souboru asi 14 druhů synantropních roztočů z různých taxonomických a ekologických skupin. Kladem práce je kromě srovnávacího přístupu s relativně velkým počtem sledovaných druhů a podrobného studia mnoha různých aspektů a faktorů ovlivňujících enzymovou aktivitu (kvantitativní stanovení všech enzymových aktivit, pH ve střevech, pH optima enzymů, vliv specifických inhibitorů, srovnání obsahu enzymů v tělních homogenátech a v exkremetech) hlavně snaha o kvalitativní průkaz a vizualizaci enzymové aktivity a pH *in vivo*, jejich lokalizaci v různých kompartmentech trávicího traktu a biologické testy výživné hodnoty jednotlivých substrátů a vlivu inhibitorů enzymů na úrovni celého organismu na základě stanovení rychlosti růstu populace vybraných druhů na různých potravách. Častým problémem při interpretaci mezidruhových rozdílů v zastoupení trávicích enzymů a jejich aktivitách totiž bývá, že stanovení enzymové aktivity z celotělních homogenátů skupin malých živočichů *in vitro* odráží vzhledem k optimálním podmínkám enzymologických testů spíše koncentraci enzymu než jeho fyziologickou aktivitu u živého jedince za fyziologických podmínek. Také souvislost mezi *in vitro* naměřenou enzymovou aktivitou trávicí nějaký substrát a významem tohoto substrátu pro výživu a energetickou bilanci daného druhu není ze zhora uvedených důvodů jednoduše přímočará. Doplnění enzymologických dat o další metodické přístupy považují proto na základě zkušeností s půdní mesofaunou za zásadní pro získání uceleného obrazu o potravní biologii jednotlivých druhů.

Jedná se o velmi zajímavou práci, která rozšiřuje významným způsobem dosavadní znalosti biochemické stránky potravní biologie roztočů. Použité metodické přístupy jsou vhodně zvoleny, jsou nápadité a z biochemického pohledu předložený soubor publikací svou precizností a důkladností převyšuje řadu v užším oboru (trávicí enzymy roztočů) dosud publikovaných výsledků. Vzhledem k hospodářskému vlivu sledovaných živočichů a jejich alergologickému významu nelze práci upřít ani potenciální přínos praxi. Může sloužit jako zdroj informací pro vypracování strategie regulací škůdců, medicínskou diagnostiku či organizování hygienických opatření.

Z formálního pohledu je možné práci vytknout nevalnou kvalitu překladu abstraktu do češtiny a nerespektování české diakritiky ve jménech citovaných autorů v úvodu i v publikacích. K obecnému úvodu nemám jinak žádné závažné připomínky. Postrádám ovšem na závěr nějaké celkové shrnutí, sumarizující syntézu výsledků všech předkládaných publikací, obsahující charakteristiku potravní biologie všech testovaných druhů na základě souhrnných znalostí střevního pH, lysozymové, sacharolytické i proteázové aktivity včetně návrhu nějaké klasifikace nebo vysvětlení vztahu k ekologii jednotlivých druhů.

Kvalita jednotlivých publikací byla ověřena recenzenty kvalitních mezinárodních časopisů. Následující podrobnější poznámky a dotazy se vztahují hlavně k metodickým detailům:

Různé druhy roztočů byly kultivovány na dvou různých potravách, ale test vlivu těchto dvou potrav na lysozymovou aktivitu téhož druhu chybí. Je možné, že potrava interaguje s mezidruhovými rozdíly lysozymové aktivity? Na které potravě byl chován *A. robustus*? (První publikace str. 201).

Autor by měl vysvětlit přepočítání enzymové aktivity na "mg of total weight of crystalline protein" při stanovování aktivity lysozymu (str 203, první publikace). Proč nepoužil k přepočtu přímo obsah rozpustných proteinů z Bradforda?

Stálo by za to rozebrat podrobněji vliv různých způsobů vyjádření enzymové aktivity tj. na jedince, na gram živé hmotnosti, na gram sušiny roztočů a na gram proteinu ve vztahu k možným mezidruhovým rozdílům ve velikosti, hmotnosti, obsahu proteinů nebo v poměru objemu trávicího traktu k objemu těla. Byl např. obsah proteinů ve WME a SGME stejný u všech druhů? Existují rozdíly v tělní stavbě jednotlivých druhů? Co by to mohlo vypovídat o vzájemném poměru lysozymových enzymů s trávicí a obrannou funkcí u různých druhů?

Do jaké míry odpovídá enzymová aktivita v SGME enzymové aktivitě ve střevním obsahu? Je možné, že se v SGME dále množí mikroflora s lysozymovou (nebo nespecifickou chitinolytickou) aktivitou ať už střevního původu nebo kontaminující chovné médium zevnějšku?

WME může obsahovat směs různých alfa-glukozidáz, naměřená aktivita může být výslednicí aktivit několika enzymů a celková inhibice je součtem účinků acarbosy na různé enzymy. Ovlivnilo to nějak interpretaci výsledků (publikace č. 2)?

Autor neuvádí že by používal v reakční směsi pro stanovení amylázové aktivity bakteriostatika nebo inhibitory glykolýzy. Je možné, že by výsledky mohly být ovlivněny mikrobiální infekcí reakční směsi nebo spotřebou glukózy glykolytickými enzymy obsaženými v homogenátu? Bylo by vhodné podrobněji vysvětlit co

přesně obsahoval slepý vzorek a jestli byla provedena nějaká korekce na obsah glukózy v homogenátu (publikace 2 str 142).

Jak mohlo být in vivo pozorováno uvolňování barviva ze substrátu starch azur, když nerozložený starch azur je modrý stejně jako volné barvivo (publikace č 2, str. 144)? Při stanovení in vitro se reakční směs musí nejprve centrifugovat. Pak se teprve oddělí volné modré barvivo (rozpustné v supernatantu) od substrátu (nerozpustná modrá usazenina v sedimentu).

Sacharáza negativně koreluje s alfa glukosidázovými aktivitami. K tomu poznámka: Je pravděpodobné, že sacharóza a melezitóza (trisacharid z fruktosy a dvou glukóz) se u roztočů štěpí také invertázou (beta fructofuranosidázou - EC 3.2.1.26), nejen nespecifickou alfa glukosidázou. Tomu nasvědčují dosavadní výsledky u pancířníků, kde bývá sacharázová a melezitázová aktivita negativní u některých druhů, přesto že nespecifickou alfa glukosidázová aktivita byla prokázána vždy. Terra (1994) ovšem udává, že u hmyzu se EC 3.2.1.26 vyskytuje vzácně.

Shrnutí - doporučení: Předloženou disertační práci považuji za velmi dobrou a doporučuji ji komisi ke schválení.

V Českých Budějovicích dne 10.12.2012

RNDr. Vladimír Šustr, CSc.,
BC AV ČR, v.v.i., ÚPB

Podpis: