

Oponentský posudek na diplomovou práci- Jednohostitelská trypanosomatida bezobratlých- Bc. Jolany Havlové

Diplomová práce (DP) se zabývá specificky trypanosomatidy švábů, což byla doposud málo studovaná skupina hostitelů. DP si klade tři cíle- 1/ určit přítomnost trypanosomatid u různých populací a druhů švábů, jak z chovů tak volně žijících, 2/ analyzovat morfotypy a ultrastrukturu buněk švábi herpetomonády *Herpetomonas tarakana*, 3/ zkoumat hostitelskou specifitu *H. tarakana* pomocí experimentálních infekcí.

Mezi hlavní závěry práce patří zjištění, že prevalence nákazy trypanosomatid je u švábů relativně nízká a z velké části jde o infekce druhem *H. tarakana*. V rámci DP se dále podařilo tento druh axenizovat, popsat morfotypy a pomocí transmisní elektronové mikroskopie studovat ultrastrukturu buňky, zejména oblast kapsy bičíku. Tímto druhem byly dále provedeny experimentální infekce, které prokázaly jeho vysokou hostitelskou specifitu.

Splněním cílů DP přispívá k poznání trypanosomatid švábů, zejména druhu *H. tarakana*. Z mého pohledu pak k obzvláště zajímavým patří sekce věnující se ultrastruktuře buněk *H. tarakana*. Elektronmikroskopické snímky jsou velmi zdařilé a prokazují přítomnost řady doposud málo studovaných struktur kinetoplastid v oblasti periflagelární kapsy tohoto druhu. Spolu se schopností vytvářet různé morfotypy v kultuře a nepatogenitou pro člověka by *H. tarakana* možná mohla v budoucnu sloužit jako alternativní model pro studium buněčné architektury trypanosomatid.

V rámci DP si autorka osvojila spektrum různorodých metod, zahrnující jak práci se živými šváby, kulturami trypanosomatid, pitvy švábů, PCR pro barcodingovou analýzu švábů a určování trypanosomatid a dvě techniky přípravy trypanosomatid pro elektronovou mikroskopii.

Z rozsáhlého literárního přehledu je zřejmé, že autorka nabyla velmi solidní teoretické vědomosti o předmětu DP, a to jak o jednohostitelských trypanosomatidech u různých skupin hmyzu tak i o ultrastruktuře buněk trypanosomatid.

DP je pečlivě vypracována, obsahuje však několik menších, většinou formálních, nedostatků- viz níže.

Část výsledků DP tvoří součást publikace o diverzitě trypanosomatid ve švábech publikovanou v r. 2015 v Journal of Eukaryotic Microbiology.

Na základě těchto skutečností **doporučuji předloženou diplomovou práci k obhajobě.**

Jak již bylo zmíněno, obecně je tato DP pečlivě vypracována a nedostatky jsou většinou formálního charakteru. Zde uvádím ty nejzjevnější:

1/ Kapitola literární přehled je nabita informacemi. Množství informací je ovšem někdy na škodu přehlednosti. Příkladem můžou být kapitoly 2.3.1. a 2.3.2.1, které působí jako přehled všech experimentů nalezených v literatuře. Jednotlivé informace však působí fragmentárně. Bylo by vhodnější nelézt a zdůraznit jednotící prvky výsledů popsaných pokusů, podobně jako je to uděláno v kapitole 2.3.2.2.

2/ V celé DP jsou nekonzistentně používány české a anglické názvy pro buněčné struktury. Toto je problematické, protože u některých, zejména trypanosomatida specifických cytoskeletálních struktur, české názvy nejsou obecně používány. Proto by bylo potřeba u první zmínky každé

struktury v textu DP uvést její zavedený anglický název, český název používaný autorkou a případně zkratku. Zkratky mnohdy nejsou v DP dostatečně vysvětleny, např. proč je použita zkratka FP pro strukturu nazvanou periflagelární kapsa. Někdy celý název, ze kterého je zkratka odvozena, chybí (např. u struktury TAC).

3/ Diskuze- některé části, např. část věnující se nákazám švábů, působí příliš jako opakování výsledků.

4/ U některých obrázků chybí popisky, např. na str. 68 a 72. U některých obrázků, např. obr. 4.6.1 na str. 65 má měřítko zjevně nesprávnou velikost.

Otázky pro autorku DP:

1/ V DP se jenom okrajově zmiňují možné adaptace jednohostitelských trypanosomatid na horizontální přenos. Je snadné si představit, že takové adaptace by mohly mít zásadní význam pro šíření trypanosomatid. Je o této tematice známo něco více- např. zda dochází k aktivnímu pohybu ve vodě směrem k hostiteli, regulaci produkce pseudocyst, ovlivňování chování hostitele apod.?

2/ Čím si vysvětlujete nízkou úspěšnost namnožení trypanosomatid odebraných ze střev švábů v médiu? Bylo by možné tuto úspěšnost zvýšit? Může nízká úspěšnost souviset s pozorovanou preferencí trypanosomatid k růstu ve smíšené kultuře s plísňemi? Máte nějaké vysvětlení pro lepší růst buněk ve smíšené kultuře?

3/ Na některých snímcích, např. str. 59, 60 není jasná pozice a délka bičíku. Představovalo toto problém pro určení morfotypů? V případě, že ano, jak by se dal bičík zvýraznit?

4/ Jak je definován choanomastigot s krátkým vs dlouhým bičíkem? Je mezi nimi jasná hranice, nebo se jedná o kontinuum délek bičíků, jako např. u promastigotů leishmáníí? Údaje pro které choanomastigoty jsou uvedeny v tabulce 4.1.3?

5/ Růstová křivka *H. tarakana* v kultuře- zjištění přítomnosti různých morfotypů v různém čase je velmi zajímavé. Toto nebylo popsáno u kultur *Trypanosoma brucei* nebo leishmáníí. Na čem může záviset přítomnost různých morfotypů v různých časech? Rekapituluje toto chování průběh infekce ve švábovi? Nebylo by možné ovlivnit úspěšnost infekcí švábů výběrem kultur o různých poměrech morfotypů?