



Posudek na magisterskou práci

“Ekologie a biodiverzita jednohostitelských trypanosomatid u ploštic na území ČR“

Heleny Klepetkové

Cílem práce H. Klepetkové bylo zmapovat výskyt trypanosomatidů u hmyzu, především ploštic v ČR, dále popsat vztah s hostitelem, lokalizaci infekce a popsat diverzitu těchto parazitů. V optimálním případě bylo dalším cílem i objasnění životní cyklus těchto přehlížených bičíkovců.

Mohu úvodem konstatovat, že práce je jak výsledkově, tak zpracováním mimořádně rozsáhlá a výborně zpracovaná. Kdyby byla práce sepsána v angličtině (což mimochodem doporučuji všem magisterským studentům katedry molekulární biologie v Č. Budějovicích), mohly by některé její pasáže být bez větších úprav součástí solidní vědecké publikace, čímž se dostává na úroveň mezi magisterskou a doktorskou práci. Pevně doufám, že v každém případě v brzké době budou v ní prezentované výsledky publikovány. Cílem mých kritických poznámek je tudíž pouze vznesení některých otázek případně odstranění drobných nepřesností.

Z úvodu je zřejmé, že autorka je především parazitoložka s výborným zoologickým a terénním uvažováním, ale molekulární biologie není zcela její doména. Jinak by se vyhnula konstatování ze str. 7. - ...sestřih všech mRNA-nutno dodat jaderných..., či zastaralé a i díky její domovské katedře překonané Schlegelově citaci o „pre-mitochondriálních“ eukaryotech. Rovněž mi dosud unikalo, že by byl u trypanosomatid zachován druhý kinetosom, jak je uvedeno na str. 7. Na první větě v 2.2 je příliš patrný opis z angličtiny, nelze mluvit o podjednotkách některých proteinů (str. 9). Podobně neobratná formulace je „multiproteinový komplex skládající se z několika proteinů... (str. 10). Rozhodně není pravda, že trans-splicing opravuje čtecí rámce (str. 11), pasáž o SL RNA není zrovna příliš srozumitelná (Nejdříve je vedoucí sekvence (SL)... (?), pak je tato informace o odstavec dále opakovaná) apod. Tím ale trochu slabší část práce končí a od kapitoly 2.3 a zejména pak od 2.4 je text nejen prakticky bezchybný, ale i čtivý, konzistentně napsaný. Vrcholnou částí podrobného a jednoznačně nadprůměrného úvodu je kapitola 2.8., v níž



autorka ukázala vyčerpávající práci s příslušnou literaturou, ve špičkovém rozsahu a kvalitě.

Nemám žádné připomínky k Materiálu a metodice, které jsou zpracované pečlivě a v dostatečném rozsahu a prokazují autorčin metodický rozsah od čistě terénních a faunistických přístupů, až po molekulární fylogenetiku.

Výsledky jsou rozsáhlé a perfektně zpracované. Autorka nejen vyšetřila více než 1000 ploštic, což je největší vzorek v tomto typu studií, ale získala o každém infikovaném jedinci celou řadu potenciálně důležitých informací, jako je určení druhu hostitele (s pomocí dr. Kmenta), pohlaví, lokalizace a intenzity infekce apod. Velmi ilustrativní je graf 4.1, který ukazuje, že negativita některých čeledí ploštic je s vysokou pravděpodobností dána jen počtem vypitvaných jedinců a který by se jednou hodil do přehledového článku.

Autorka zahrnuje do detailní fylogenetické studie všechny publikované sekvence, čímž v kombinaci s jejími daty vznikl velmi rozsáhlý dataset, který ze všech možných úhlů vyhodnotila. Přijala systém „Typing units“ a zapracovala do něj nejen své vzorky, ale i sběry z Ghany, Francie a Sicílie, které pomáhala zpracovat.

Diskuse je opět vyčerpávající a na rozdíl od předchozích podobných prací se fundovaně zabývá i biologií hostitelů a díky ní přichází s novými interpretacemi životních cyklů, vytvořených fylogenetických stromů apod. K diskusi mám tyto hlavní dotazy:

1. Když by autorka musela vytvořit novou taxonomii hmyzích trypanosomatid, kolik a jaké taxonomické jednotky by zavedla?
2. Co navrhuje autorka dále dělat s potenciálně klíčovým izolátem TJ59? Je k dispozici v kultuře?
3. Rozdíly v tloušťce kinetoplastu jsou překvapivé a de facto zklamáním. Nemohly být způsobeny drobnými rozdíly při fixaci a zpracování vzorků?

Drobné dotazy:

1. Proč nebyla zahrnuta Brachycera z Ghany?
2. V případě zjištění shodných izolátů v plošticích a blechách (a dalších podobných případech). Je riziko laboratorní kontaminace malé?
3. Proč nebyl do analýz zahrnuta infikovaná pyrhoporidní ploštice od Jeffa Silbermanna z Georgie, USA?

Doplnění či drobné chyby:

1. str. 6 – ...u ploštic proběhl v oblastech střední a Jižní Ameriky...



2. str. 6 - ...které nám pomohly odhalit...
3. str. 7 a další - ...doporučuji již nekontaminovat literaturu rodem *Endotrypanum*. Je jednoznačně invalidní.
4. str. 9 – autorka zavádí zkratky mtDNA a kDNA, které ale prakticky nikde nepoužívá (viz mitochondriální DNA a kinetoplastová DNA na téže straně atd.). Nakonec se do svých zkratk zaplétá používáním kinetoplastové mtDNA, což je protimluv.
5. str. 10 - ...zahrnují inserce-delece ...
6. str. 10 - ...RNA editingu probíhající v mitochondrii
7. str. 11 – není vysvětlena zkratka snRNA
8. str. 14 - ...avšak ta jsou pozorována...
9. str. 14 – Svobodová a kol., 2007.
- 10.str.28 – Arnqist, Klingerberg...
- 11.str.33 – Ačkoli tento předpoklad nebyl potvrzen. Jelikož...
- 12.str.36 - ..které vykazovali známky...
- 13.str.102 – chybné či nesrozumitelné formulace ve 2. odstavci

Obhajoby se kvůli doktorským obhajobám ve stejném dni v Českých Budějovicích nemohu zúčastnit a navrhuji tudíž v nepřítomnosti jednoznačně výborné hodnocení. Jedná se nepochybně o nadprůměrnou magisterskou práci, a to jak rozsahem získaných dat, tak i jejich zpracováním. Pevně věřím – a motivuji k tomu jak Helenu K. tak Jana V., že úspěch této práce bude v blízké budoucnosti podtržen publikováním většiny výsledků.

V Č. Budějovicích dne 7. září 2010

Prof. RNDr. Julius Lukeš, CSc

PS: Prosím o písemnou odpověď na mé dotazy.