

POSUDEK K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název práce:

**Diferenciace totipotentních zárodečných buněk u larev ptačích schistosom /
Differentiation of totipotent germinal cells in larvae of bird schistosomes**

Autor práce:

Bc. Jitka Peštová

Katedra Parazitologie, PřF UK v Praze

Oponent:

Mgr. Marta Chanová, Ph.D.

Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze

Předložená diplomová práce má 99 stran, je členěna dle zvyklostí (Úvod, Cíle DP, Literární přehled, Metodika, Výsledky, Diskuze, Závěr, Seznam použitých zkratk, Literatura), obsahuje 8 přehledných tabulek a kvalitní obrazovou dokumentaci (početné mikrofotografie). Jazyková i stylistická úroveň je dobrá a práce splňuje formální požadavky kladené na DP.

Byly stanoveny dva cíle DP: 1. charakterizovat vývoj jednotlivých larválních stádií *Trichobilharzia regenti* v mezhlostitském plži, 2. potvrdit nebo vyvrátit výskyt sporocystogeneze u dceřiných sporocyst *T. regenti*.

Kapitola „Literární přehled“ shrnuje informace o vývoji motolic v plížích z dostatečného množství vhodně zvolených a převážně správně citovaných literárních zdrojů (viz Poznámky).

Kapitola „Metodika“ je napsána velmi nepřehledně. K lepší orientaci v textu by bylo vhodné přeuspořádat obsah a upravit názvy jednotlivých podkapitol.

Příklady:

V podkapitole 4.1 „Získávání materiálu“ (s. 21) zcela postrádám informaci, jaké tkáně plže byly histologicky zpracovány nebo kolik plžů bylo zpracováno v jednotlivých sledovaných intervalech / pro jednotlivé experimenty (částečně je toto uvedeno v podkapitole 4.5.1 „Barvení řezů“ na s. 26). Prosím přehledně uvést v obhajobě.

Následující podkapitola 4.2 „Použité roztoky“ obsahuje seznam složek jediného roztoku (SSS pufru) bez dalšího vysvětlení jeho použití a vůbec zařazení do této podkapitoly.

Podkapitola 4.4 „Zalévání tkání“ obsahuje mimo zalévání i informace o krájení řezů a jejich dalším zpracování (odparafinování, zavodnění a pod.).

V podkapitole 4.5.1 „Barvení řezů“ je zařazeno několik komentářů hodících se spíše do diskuze - o vhodnosti/nevhodnosti, resp. použitelnosti/nepoužitelnosti jednotlivých

uvedených metod na základě zjištění z provedených experimentů, nebo informace o programu ImageJ použitém pro měření pozorovaných struktur.

Experimenty zahrnovali infekce mezihostitelských plžů, následné pitvy plžů v různých intervalech po infekci a zpracování tkání pro světelnou i elektronovou mikroskopii. Bylo použito široké spektrum histologických a imunohistochemických metod (zalévání do různých zalévacích médií, různé metody barvení, fluorescenčního a IHC značení). Shrnuje je kapitola „Výsledky“, opět ale s nevhodným členěním snižujícím přehlednost textu. Místo použitého uspořádání (podkapitoly 5.1 „Použití histologického barvení pro sledování diferenciací...“, 5.2 „Značení celých červů“ a 5.3 „Elektronová mikroskopie“) by bylo vhodné seskupit data získané k jednotlivým částkovým otázkám nezávisle na použité metodě, např. do podkapitol „Vývoj mateřské sporocysty“, „Vývoj dceřiné sporocysty“ a „Vývoj cercárie“. Nestalo by se např., že ve dvou tabulkách (č. 5 a č. 6) se stejným názvem („Vývojová stádia cercárií“) uvedených ve dvou kapitolách autorka člení a charakterizuje jednotlivá vývojová stádia odlišně.

Práce obsahuje detailní popisy jednotlivých vývojových stádií včetně fotodokumentace. U stádia mateřské sporocysty autorka popisuje její vývojový stav 5, 10, 15 a 20 dní po infekci (dpi.), u stádií dceřiné sporocysty a cercárie člení vývojový stav do několika stupňů zralosti (rovněž označených termínem „stádia“) bez časového údaje, co v textu přijatelně odůvodňuje. Vzniká tím ale nejasnost ohledem množství zpracovaného materiálu, resp. počtu exemplářů pozorovaných pro popis a definování jednotlivých „stádií“ dceřiných sporocyst a cercárií. Z textu je zřejmý jen počet pozorovaných exemplářů použitých pro popis vývoje mateřské sporocysty (celkem 3ks sporocyst 5 dpi., 2ks sporocyst 10 dpi. a jen po jedné sporocystě 15 a 20 dpi., co snižuje výpovědnou hodnotu výsledků).

Kapitola „Diskuze“ je přehledná a uvádí některé nesrovnalosti z předchozí kapitoly na pravou míru. Výsledky vlastních pozorování jsou dostatečně porovnány s poznatky u jiných motolic z vhodně zvolených literárních zdrojů a zodpovědně interpretovány. Závěr stručně shrnuje cíle i získané výsledky experimentů.

Poznámky:

1. s. 5, 15, 16 (4x), 17: Seznam literatury obsahuje publikace Cort a Olivier 1943a a 1943b. V textu se ale kromě s. 8 neuvádí, o kterou ze dvou prací (a/b) se jedná.
2. s. 35: Místo popisu protilátek (př. proti α -tubulínu, proti serotoninu, proti myším protilátkám,...) by bylo vhodnější použít název uváděný výrobcem, popř. i katalogové číslo.
3. s.99: U seznamu sekundárních zdrojů chybí informace o původu citací (z čeho autorka tyto zdroje a související interpretace cituje).

Otázky k diskusi:

1. Na základě jakého počtu pozorovaných larev byla definována jednotlivá vývojová stádia dceřiných sporocyst (1-5) a cercárií (1-10)?

2. Vyskytuje, nebo nevyskytuje se u dceřiných sporocyst *T. regenti* sporocystogeneze?
3. Jaký je po vypracování DP Váš názor na spor „ameiotická partenogeneze vs. polyembryonie“ u motolic?
4. Zdůvodněte prosím nezvykle vysoký počet miracidí použitých pro nákazy plžů (15ks/plž) včetně výhod a nevýhod pro dané experimenty.

Celkové hodnocení:

Práci doporučuji k obhajobě.

13. září 2015

Mgr. Marta Chanová, Ph.D.