

RNDr Jaroslav Weiser DrSc
Oponentský posudek disertační práce

Mgr Miroslav Hylíš,

Molekulární fylogeneze, biologie a klasifikace mikrosporidií podle modelových skupin parazitujících u Trichoptera a Lepidoptera

9. 9. 2007

Předložená disertační práce se věnuje molekulární fylogenezi a klasifikaci mikrosporidií dvou vyhraněných skupin hostitelů, vodní skupiny Trichoptera a dvou druhů bekyní. Jako základ pro svoji práci vychází autor ze starých prací, publikovaných před půl stoletím za tehdy užívaných definic. Tehdy popisy byly orientovány v Linneovské taxonomii tak, že měly definovat organismus tak, aby jej každý znovu mohl určit s použitím tehdejšího maximálního přístupu světelným mikroskopem a podmínka byla, že typový materiál musí být zachován, aby při revizi nový autor mohl projít s novým izolátem všechna kritéria a ubezpečil se o identitě nebo odchylnosti nového materiálu. Tehdy šlo o to, aby v nově vznikajícím oboru hmyzí patologie- biologického boje s hmyzem byly zachyceny všechny v oblasti přítomné patogeny, které by bylo možno použít k biologickému boji. Po půl století tyto ohlášené druhy napadající zmíněné skupiny hmyzu autor znovu vyhledal a zpracoval je s použitím současných vrcholových technologií elektronové mikroskopie a molekulární genetiky. Proti tehdejší taxonomii, která byla použita v klíčích u Weisera 1961 a 1966 nebo Sprague 1977, začlenil své izoláty do současného fylogenetického stromu, který s použitím pozadí údajů o analýze genů dalších mikrosporidií charakterizuje současný názor o diferenciaci sledovaných mikrosporidií ve vztahu ke svým hostitelům. Model členění srovnávané mikrosporidie podle výsledků fylogenetických analýz do osmi větví, z nichž se věnuje hlavně větvi (superkladu) 1, ve které předkládá svůj nový rod *Zelenkaia* s druhem *Z. trichopterae*. V tomto kladu revidoval také další skupinu starých rodů *Episeptum*, *Pyrotheca* a *Cougourdella*, pro které našel nový materiál, odpovídající starým popisům. Na novém vlastním materiálu pracoval i ve skupině 5c, kde řešil složitý vztah v regionálně rozšířených mikrosporidiích napadajících bekyni velkohlavou a zlatořitnou. Na základě shromážděných údajů předkládá autor své názory o rozložení mikrosporidií v jednotlivých superkladech podle hostitelů a o cestách diferenciaci jednotlivých rodů v přizpůsobování k jednotlivým skupinám hostitelů. Při tom zastává názor, že společný původ mikrosporidií je v napadení koryšů.

Starší pracovníci hledají v nových aspektech molekulární biologie podporu při hodnocení některých ultrastrukturálních charakteristik, zda jde o platné rodové nebo jen druhové znaky a z tohoto pohledu je zpracování mikrosporidií z chrostíků velmi významné. Ze souboru mikrosporidií zahrnutých do genetického stromu znám z osobní zkušenosti více než 25 rodů a těší mne, že např. moje návrhy rodů ve skupině *Amblyospora*, *Culicospora*, *Culicosporella* a *Hazardia* jako Amblyosporidae platí i v tomto přehledu a jejich morfologická a fyziologická příbuznost souhlasí s kladologickým zařazením. Na druhou stranu mnoho anomálií v „rozptylu“ rodů navádí k podrobnější revizi příslušnosti k r. *Vairimorpha* u *V. sp.* ve skupině 1a a také mikrosporidií z larev muchniček, jejichž příslušnost k r. *Amblyospora* je neprokázaná. Jsem přesvědčen, že s poznáním sekvencí dalších mikrosporidií se strom podle genetických znaků přiblíží ke klasickému schématu rodů, použitelnému při sestavování klíče. Nejhorší jev je u moderních autorů nedostatek provázanosti „nové“ taxonomie se

„starou“ jejíž nejlepší formou je Kudova monografie z roku 1924. Je základní proto, že zahrnuje doslovné znění popisů a současně vyobrazení. Chybění vyobrazení a nedostatek praktických zkušeností je základním nedostatkem velkého seznamu Spragueho z r. 1977. Jako příklad mizení informací, které se také odráží do určité míry i v této disertaci bych uvedl rod *Pérezia*. Tam se sešly údaje o mikrosporidiích se spory ve dvojici (což je charakteristika i našeho rodu *Zelenkaia*). Thomson bez pochopení typu vývoje těchto mikrosporidií je převedl do rodu *Glugea* (který ale nemá spory ve dvojicích) a Sprague ve své monografii je spojil s rodem *Telomyxa*. Při tomto převádění nebyla řešena problematika různých hostitelů těchto dvousporových mikrosporidií a tak se stalo, že moje *Pérezia trichopterae* z r. 1946 byla v mé monografii z 1961 (str. 71) uváděna jako *Glugea trichopterae* a u Sprague 1977 je vedena na str. 175 jako *Telomyxa trichopterae*. Naši autoři tohoto parazita Trichopter z naší oblasti nezachytili v přírodě ani v literatuře. S ní je tam také *Thelohania trichopterae*, která rovněž unikla autorům práce o *Zelenkaia*.

Předložená disertace přináší i řadu úvah o vzájemných vztazích mikrosporidií jak je nabízejí výsledky sekvenování. Disertace přináší i řadu prací, ve kterých Mgr Hyliš popisuje materiál mikrosporidií chrostíků i bekyní, který sám sebral a elektron-mikroskopicky i sekvenováním zpracoval a použil k řešení otázek molekulární fylogenie. Připravil rovněž velmi dobré TEM snímky studovaných mikrosporidií. Je škoda, že reprodukce v disertaci nedovolují rozlišit vnitřní struktury spor, ale materiál je předložen také na samostatném CD, kde je možno snímky podrobně prohlédnout.

Při srovnávání se starými typovými materiály na Giemsových suchých roztěrech Mgr Hyliš zjistil, že Giemsou barvené nátěry se dají použít pro sekvenování, i když jsou v dokladové sbírce již 50 let. Je ovšem třeba, aby čerstvý materiál byl včas fixován na sklíčku koncentrovaným metylalkoholem. Tato potřeba před 50 lety nebyla vždy respektována a proto použitelnost starých roztěrů je někdy omezena.

Předložená práce přináší velmi hodnotná zjištění, která vyhodnocují i řadu starších pozorování a přispívají k hlubšímu poznání skupiny mikrosporidií. Autor byl velmi pilný při shromažďování a zpracovávání materiálu a jeho teoretické úvahy o vztazích mikrosporidií a jejich hostitelů přinášejí významné závěry do současného diskusního varu kolem mikrosporidií. Proto doporučuji, aby Mgr Miroslavu Hylišovi byl udělen titul Ph.D.

Dr. Jaroslav Weiser

