

## POSUDEK OPONENTA HABILITAČNÍ PRÁCE

**Masarykova univerzita**

**Uchazeč**

RNDr. Andrea Bardůnek Valigurová, Ph.D.

**Habilitační práce**

Strategies of parasitism in early branching Apicomplexa

**Oponent**

Prof. RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.

**Pracoviště oponenta,  
instituce**

Katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova

Ve své habilitační práci se dr. Bardůnek Valigurová zabývá různými aspekty života gregarin a některých dalších linií výtrusovců získaných především z bezobratlých hostitelů, které souhrnně nazývá „early-branching apicomplexans“. I když jsou výtrusovci z parazitologického hlediska nejvýznamnější skupinou prvoků a i pro protistology jsou velmi zajímaví díky surrealistickým modifikacím buňky a nefotosyntetickým plastidům, jsou jako celek pozoruhodně málo zkoumáni. To by se na první pohled mohlo zdát zvláštní, po srovnání s jinými skupinami protist je ale zjevné, že je to normální situace a že zřejmě existuje jakési nepsané pravidlo, které se dá přibližně shrnout takto: „Pakliže nějaká skupina organismů zahrnuje významné lidské parazity, je na výzkum jejích ostatních zástupců uvaleno mnohaleté moratorium. Po jeho uplynutí sice zájem o tyto organismy skokově vzroste, nikdo je však není schopen získat z přírody. Když už se to povede, uspěje několik konkurenčních skupin najednou, čím více, tím lépe. Výsledkem je, že jsou všichni ve stresu“. Naštěstí habilitantka se svými spolupracovníky toto pravidlo úspěšně obchází.

Gregarinám se Dr. Bardůnek Valigurová věnuje zjevně po celou svou vědeckou kariéru. Již její první článek vyšlý v impaktovaném časopise (2003) je alespoň dle názvu zásadní pro slovenskou gregarinologii: „First records of gregarines (Gregarina, Apicomplexa) from Slovakia“. Brzy poté se začala zabývat ultrastrukturou buněk gregarin a dalších linií výtrusovců a ultrastruktura tvoří dodnes hlavní část jejího výzkumu. Bez nadsázky lze tvrdit, že je habilitantka v tomto oboru vedoucí světovou osobností. Vlastně se dá také říci, že donedávna měli habilitantka a její spolupracovníci monopol na studium některých linií výtrusovců. Její práce se vyznačuje obdivuhodnou precizností a perfekcionisticky optimalizovanými metodami elektronové, fluorescenční a konfokální mikroskopie; nelze než tiše závidět. Díky tomu je schopná studovat i části buněk plné membrán, což je pro mě jen obtížně představitelné. Výsledky odhalily netušenou variabilitu přichycovacích struktur a podpovrchového cytoskeletu výtrusovců a umožnily první skutečně kvalitně podložené srovnávací studie.

Habilitační práce dr. Bardůnek Valigurové je soubor 16 publikovaných článků opatřený komentářem. Články byly publikovány především v kvalitních protistologických a parazitologických časopisech, ale též ve *Frontiers in Zoology* a *Environmental Microbiology Reports* (a ještě *PLoS One*), kde prošly náročným recenzním řízením. To představuje přibližně polovinu produkce habilitantky, dle *WoS* je autorkou nebo spoluautorkou 30 článků, které jsou 285x citovány. Komentář, který články zasazuje do aktuálního kontextu oboru (alespoň v době odevzdání habilitační práce), je rozsáhlý (42 stran). Je psán formou review a autorka se zde velice detailně věnuje dvěma hlavním tématům svého výzkumu: 1) variabilita přichycení především epicelulárních výtrusovců k hostitelským buňkám a s tím související potravní strategie, 2) podpovrchový cytoskelet výtrusovců a s tím související diverzita ve způsobech pohybu. Přestože se toto review ve své většině vlastně soustřeďuje na popis různých membránových záhybů, je velmi čtivé a čtenář se u něj nezačne nudit; naopak, získá nutkání přestat se zabývat bičíkovým aparátem a také začít zkoumat

membránové záhyby. Text lze doporučit jako studijní materiál pro magisterské a doktorské studenty parazitologie.

Sluší se, aby oponent práci i něco vytknul. Je škoda, že v práci chybí srovnání „early-branching“ výtrusovců s těmi „klasickými“ – kokcidiemi (myšleno intracelulárními) a krvinkovkami. Také bych uvítal zmínku o rodu *Nephromyces*, který je zajímavý svou extracelulární lokalizací a (jak už nyní víme) fylogenetickou pozicí.

Fylogenetická pozice řady „nekanonických“ linií výtrusovců byla až do letošního roku neznámá. To je dáno tím, že dosavadní analýzy, založené na jednom nebo několika málo genech, nebyly schopny fylogenetické vztahy rozřešit, a dá se to dobře ukázat na práci o blastogregarinách, kde je habilitantka spoluautorkou. Habilitantka proto byla v nelehké situaci, kdy ve svých srovnávacích studiích nemohla jednotlivé znaky mapovat na nějaký věrohodný fylogenetický strom. V protistologické komunitě se již delší dobu mluvilo o sekvenaci genomu různých podivných výtrusovců; stalo se to až v letošním roce, kdy bylo najednou publikováno několik genomických a fylogenomických analýz, které se zásadně liší zastoupením „early-branching“ výtrusovců (závorky zde používám proto, že tento termín nemám rád). Všechny tyto práce zjevně vyšly těsně po odevzdání habilitační práce, nemohly v ní tedy být reflektovány. Protože však vyřešily pozici většiny zkoumaných linií (kromě kryptosporidií), budou se jich týkat některé mé otázky.

Otázky oponenta:

1. Epicelulární lokalizace výtrusovců je tradičně považována za plesiomorfii, kdežto ta intracelulární za odvozený stav. Jsou pro to lepší doklady než jen intuitivní představy? Je podle habilitantky možná reverze z intracelulární lokalizace na epicelulární?
2. Jestliže jsou epicelulární protokokcidie (nebo alespoň *Eleutheroschizon*) skutečně příbuzné intracelulárním eukokcidiím („epicelulární“ kokcidie mi ve skutečnosti připadají intracelulární), znamená to, že „intracelularita“ eukokcidií a krvinkovek vznikla nezávisle na sobě?
3. Rod *Nephromyces* se v jedné fylogenomické analýze umístil na stejném místě jako agamokokcidie v jiné analýze (v každé analýze byla pouze jedna z těchto skupin). Je zde tedy možnost, že jsou si tyto „netradiční“ výtrusovci blíže příbuzní, jejich životní cykly se přitom od sebe značně liší. Je nějaký znak, který by tyto dvě skupiny spojoval?
4. Ukázalo se, že nejméně dvě skupiny „gregarin“ nemají s pravými výtrusovci nic společného – *Piridium* a *Platyproteum/Digyalum* (i zde je problém dvou analýz s rozdílným taxon samplingem). Příkladně u rodu *Digyalum* byla studována ultrastruktura apikálního pólu buňky. Druh *Platyproteum vivax* byl zase původně popsán v rodu *Selenidium* (ve zmíněné fylogenomické analýze byl však možná použit jiný druh). Je podle habilitantky zjištěná fylogenetická pozice těchto rodů věrohodná? A jsou nějakí další kandidáti na podobná překvapení?
5. Formulace „adaptation [of Apicomplexa] to a parasitic lifestyle took place before the vertebrate period“ evokuje představu, že kroužkovci jsou nějak starší než obratlovci nebo že před dobou, kdy na Zemi začali dominovat obratlovci, tu byla jakási kroužkovčí éra. Je tomu skutečně tak? Jaké odhady doby existence posledního společného předka výtrusovců nabízejí molekulární hodiny?
6. Krystaloidní tělíčko v buňce blastogregariny *Siedleckia* a protokokcidie *Eleutheroschizon* je zajímavá struktura. Mohl by to být třeba shluk kapsid virů? Občas něco podobného nalézám ve mnou studovaných protistech.

7. *Selenidium* má axonemu bičíku s modifikovanou stavbou 9 + 0. Na obrázcích v článku však nejsou vidět detaily. Jsou přítomna dyneinová raménka? A je tento bičík vůbec nějak pohyblivý?

8. Jméno *Siedleckia dogieli* bylo prohlášeno za nepoužitelné na základě toho, že jej Chatton a Dehorne použili pro druh, který popsali na základě starší kresby. Je to tedy tak, že ani oni neposkytli k nově popsanému druhu žádný popis? Pokud poskytli, domnívám se, že jméno je použitelné (práce Chattona a Dehornea pro mě není v této chvíli dostupná).

Závěr

RNDr. Bardůnek Valigurová, Ph.D. prokázala, že je vyzrálou vědeckou osobností. Její habilitační práce „Strategies of parasitism in early branching Apicomplexa“ splňuje požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Zoologie na MU.

Jílové u Prahy dne 31.10.2019

.....  
podpis