

**Oponenstký posudek na diplomovou práci Bc. Tomáše Novotného
„Karyotypová diferenciacie štírů rodu *Euscorpius* (Scorpiones: Euscorpiidae) v Evropě“.**

Začínám text svého posudku omluvou, protože jsem předloženou diplomní práci obdržel krátkou dobu před termínem odevzdání posudku, mohl jsem tudíž v textu práce leccos přehlédnout. Navíc se mě práce dostala do ruky těsně před dalekou zahraniční cestou, která ještě navíc zkrátila čas nutný k podrobnějšímu studiu práce. Přesto jsem si však vyšetřil něco času a práci, i když neprostudoval, tak alespoň podrobněji prohlédl a v dalším textu předkládám svůj nález.

Téma. Cílem práce bylo provést základní karyotypovou studii několika druhů štírů rodu *Euscorpius* obývajících Evropu a tyto údaje konfrontovat se známou molekulární fylogenií tohoto rodu. Takové mapování karyotypových, případně chromozómových charakteristik na fylogenetické stromy je principiálně správný přístup zhodnocení cytotaxonomických dat a proto je nutné toto pojetí práce přivítat a autora pochválit.

Úvod. Je logicky členěn, podává informace o pavoukvcích, dále o fylogenii štírů, jejich morfologických charakteristikách, následují dosud známé údaje o cytogenetice a cytotaxonomii štírů. Poté následuje kapitola 4 Cytogenetika dalších skupin pavoukvců, která ovšem v práci působí nelogicky, protože se nevztahuje k tématu práce, navíc je stručná, vynechává řadu důležitých informací, atd. Zařazení této kapitoly 4 působí dojmem bohužel úlitby Dr. J. Královi (= možný oponent práce) a Dr. F. Šťáhlavskému (školitel), jiné vysvětlení nemám (nebo aby to bylo delší?). Teprve nyní následuje kapitola 5, která, opět logicky, podává podrobnější informace o objektu studie, tady družích štírů rodu *Euscorpius* v Evropě.

Metodika. Odpovídá tomuto typu objektu, je v zásadě kvalitně popsána, chvalitebný je i popis obtíží při preparace a nutná omezení výpovědní hodnoty získaných dat. Cytogenetická analýza byla omezena na chromozómy barvené Giemsovým barvivem, přičemž je jisté, že kvalita dosažených preparátů by umožnila i některé protokoly pruhovací, např. bázové specifické fluorochromy. Snad příště. Metodika dále popisuje extrakci DNA a přípravu fragmentu 16S rRNA pro fylogenetickou analýzu, konstrukce a metody příslušného fylogenetického stromu jsou popsány velmi stručně, takže si nelze učinit představu, zda tomu autor dobře (a jestli vůbec) porozuměl.

Materiál. Podobně jako u jiných nemodelových objektů cytogenetických studií bylo nutno materiál sbírat v terénu a to jistě i omezilo počty studovaného materiálu. Celkem bylo studováno 20 samců 7 druhů, přičemž u jednoho druhu (*E. tergestius*) byl stanoven jen počet chromozómů, nikoliv popis karyotypu. Na první pohled se to zdá jako početně omezený materiál, ale pouze ovšem pro toho, kdo si neumí představit, jak někdy bývá obtížné určitý typ materiál z terénu vůbec získat. V tomto ohledu je to proto v pořádku.

Výsledky. Jsou podány vcelku stručně, ale přehledně, je prezentován krátký popis množství materiálu, karyotyp a fylogenetické postavení daného druhu v konstruované fylogenii. Popis je doprovázen sestavenými karyogramy, povětšinou z pachyténních chromozómů. Z formálního hlediska trochu překvapí měřítko na obrázcích, které je svislé, ač v celé cytogenetické literatuře, kterou znám je to vodorovně. To je ovšem pomínutelná drobnost, přece jen bych se však zeptal, kdo to vynalezl. Dále bych se chtěl zeptat, proč na obrázcích karyogramů nejsou uvedeny kategorie chromozómů, když ve slovním popisu karyotypu uvedeny jsou.

Diskuse. Je podána vcelku logicky, je založena na získaných datech, ukazuje, že autor se dobře orientuje v shromážděné odborné literatuře. Jádrem diskuse jsou dvě hypotézy o karyotypové diferenciaci genomů zástupců studovaného rodu a jejich (ne úplně v diskusi využitá) konfrontace se získaným fylogenetickým stromem. Na straně 43 však autor správně

uvádí, že strom založený na jediném genu nemusí odpovídat skutečným fylogenetickým vztahům a celkový obraz se tak může podstatně změnit.

Shrnutí. Po obsahové stránce je předložena studie ucelenou cytotaxonomickou studií, navíc s významným pokusem získaná data interpretovat ve vztahu k fylogonii rodu založenou byť i na jediném genu. Principiálně se jedná o správný postup a shromážděná data jsou dobrým východiskem pro zpracování kvalitní časopisecké publikace.

Formální stránka. Jak se mi líbila stránka obsahová, tedy data, jejich zpracování a principálně správný přístup k jejich interpretaci, tak jsem byl na druhé straně doslova vyděšen formálním způsobem zpracování této diplomní práce. Jsem ze staré školy, a tudíž žiji v domněnku, a vyrostl jsem v té víře, že absolvent slovatného Učení Karlova má být vzdělanec a že mimo jiné tedy musí umět užívat svoji rodnou řeč kultivovaným způsobem. Ne nadarmo se říká, že vzdělání je to, co nám zůstane, až zapomeneme to, co jsme se ve škole naučili. Toto pak končící student musí jasně demonstrovat v kvalifikační práci, jíž ukončuje studium. V následujícím přehledu uvádím některá, ne ovšem nutně všechna, formulační a terminologická klopýtnutí, či jak mám ta zvěřstva nazvat.

Str. 3 – Co si mám představit pod větou (konec 1. Odstavce kapitoly 1.1) „Karyotypy ostatních čeledí jsou buď neznámé nebo neúplné“? Jak může být karyotyp znám neúplně. Také vznáším otázku – co to je karyotyp?

Str. 3 – (začátek posledního odstavce) „Co se týká fylogeneze a vyšší klasifikace štírů...“. Co to je vyšší klasifikace štírů? Má snad autor na mysli taxonomii a nomenklaturu štírů vyšších taxonů? Jestliže ano, proč to nenapsal?

Obecná poznámka k této formulaci, stejně jako na více místech textu, autor nemá úplně jasno, jaký je významový rozdíl mezi termíny taxonomie a systematika (a tedy i logicky nomenklatura), lidsky řečeno – má v tom hokej. Jakkoliv se oba termíny v mnoha významech překrývají, přece jen je mezi nimi zásadní rozdíl. Předmětem systematiky je studium diverzity (žijících i vyhynulých) organismů, předmětem studia taxonomie je systematika. Je proto při každém užití výše uvedených termínů pečlivě rozlišovat, co chceme vyjádřit. U předložené studii tohoto typu je pak otázka vysoce důležitá.

Str. 6 – Co se míní formulací „... se jedná o jedny z nejperzistentnějších živočichů“? Slovo to já nikdy ne slyšel jsem.

Str. 7 (a jinde v textu) – nadužívání a nesprávné užívání slova konkrétně. Např. „Konkrétně se jedná o oblast...“ místo „Zejména se to týká...“

Str. 7 – Co to je tvrzení „... tak i obskurní místa...“?

Str. 8 – Hrůza, kterou ani nemám sílu komentovat „...u daných kontinentů severní Holarktidy jako hotspoty biodiverzity...“ je poté tvořivě rozvinuta následující větou „Tyto takzvané hotspoty jsou místy velké druhové diverzity“. Autor snad ani za to nemůže, ježto jsme obklíčení jazykovým prostředím, které na nás útočí větami typu „Jedeme mercedes autem za Vltava řeku do ou tů arény na extra tip sport liga zápas“. Za co, panebože, za co?

Str. 9 – „...díky molekulárnímu výzkumu potvrdil dvě genetické linie...“ Zde a na jiných místech textu dochází k nepřijatelné zkratkovitosti. Jednak se nejedná o genetické linie, ale o linie fylogenetické, a za druhé to nebylo díky molekulárnímu výzkumu, ale na základě fylogenetické analýzy určitého množství sekvencí DNA (a ty mohl získat sám molekulárním výzkumem, ale také získat z nějaké databáze).

Str. 9 – Formulace „takže byl vymezen nový druh, dříve spadající do druhu...“ Je nesprávná, formulačně nepřesná. Nový druh byl odlišen na základě fylogenetické analýzy a byl oddělen od druhu X, za který byl dosud považován nebo kam byly tyto populace zařazovány.

Str. 10 – tady a na mnoha jiných místech nepřijatelná zkratkovitost „ U skupiny Urodacidae...“. Ne. „V genomech zástupců čeledi Urodacidae...“

Str. 10 – „...probádanost štírů jako skupiny není ve srovnání s pavouky vysoká“. Co se tím rozumí? Pokud to znamená, že bylo dosud cytogeneticky prozkoumáno jen málo zástupců štírů, pak je to nutné takto napsat.

Str.10 – Co znamená věta „Zmiňované holocentrické chromozómy vznikly dle hypotézy díky existenci holocentrických chromozómů“? Podobně, co to znamená “Holocentrické chromozomy jsou typické pro velké množství skupin živočichů a rostlin, a zdá se, že jejich výskyt v organismu může vyústit v konvergentní evoluci“?

Str. 10 – „Byla popsána druhová variabilita...“ Čeho?

Str. 11 - ...“elektronovou mikroskopii k pozorování a popisu karyotypů“. Karyotyp nelze pozorovat dokonce ani ve světelném mikroskopu! Karyotyp je graficky uspořádaná (většinou) diploidní sádka chromozómů.

Str. 12 – Není zřejmé k čemu se vztahuje nadpis v Tabulce 1 – diploidní počet. Předpokládám, že chromozómů. Podobně popis tabulky samé je nepřesný, uvádí se Přehled karyotypovaných rodů štírů...přitom na jiném místě se píše, že jsou známy jen počty chromozómů, tedy nikoliv formálně uspořádané sádky chromozómů. Autor má zřejmě nejasnost v základní terminologii.

Str. 13 - Zde je jedna z perel textu „Diploidní počet pavouků je...“ Co si mám představit pod diploidním počtem pavouků? Na konci stejného odstavce s vyskytuje záhadný termín ..mióza. Pokud se nejedná o překlep, pak prosím o poučení, co mi uniklo v základech biologie buňky a jejího dělení. Děkuji předem.

Str. 13 – Proč, ptám se, jsou pavouci *překvapivě* po roztočích a sekáčích nejprobádanějším řádem? Co je na tom překvapivého? Nikdo to nečekal a najednou – tu máš čerte kropáč!

Str. 14 – Co znamená formulace „... i normálních chromozómů s jedinou dedikovanou centromerou...“? Kdo dedikoval normálnímu chromozómu centromeru? Vzhledem k tomu, že přednáším předmět Srovnávací cytotaxonomie obratlovců, bych byl se to velmi rád dozvěděl.

Str. 14 – „Tento fakt je pravděpodobně způsoben polyploidizací karyotypu“ Nikoliv, viz. výše. To, co se může zvětšit polyploidizací je genom.

Str. 15 – „... získal cytogenetická data na štírcích“. Hrůza formulační!

Str. 17 – Ve větě „V následném textu..“ jsou slova „během výzkum“ nadbytečná.

Str. 19 – Formulace „Tento druh prošel za posledních deset let.“ je nesprávná. To, co prošlo změnami, je pojetí druhu, tedy podrobněji – na základě nových, dalších a podrobnějších údajů byla odhalena dosud skrytá diverzita skupiny považované dosud za druh jediný, následně byla proto změněna stávající taxonomická konstrukce, která tyto změny odráží a návazně tak logicky došlo k nomenklatorickým změnám. Prosím, ujasněte si terminologii pane kolego!

Str. 22 – Cíle. Podobně jako v jiných částech textu jsou zde obsaženy nepřesnosti. Nejedná se o taxonomii, není přesně vyjádřeno, co má být porovnáno (bod b), a už vůbec nelze porovnat genetickou variabilitu s karyologickými údaji (ale mapovat cytogenetická zjištění na zkonstruovaný fylogenetický strom).

Str. 23 – Obecně se vyskytující výraz figura je anglismus, správně se jedná o buňku ve fázi...Věta “Štírům rodu....kdy byli použiti pro karyotypovou analýzu“ je nesprávná. Štíři byli ve skutečnosti použiti pro preparaci chromozómů. Pro karyotypovou analýzu byly použity fixované dělicí se buňky ve fázi...atd.

Str. 23 – srovnání s lidskou cytogenetikou je zde záhada. Autor pracoval na pracovišti s vysoce rozvinutou cytogenetikou členovců. Proč nevezal měřítko zde? Záhada!

Str. 24 – Není uvedena teplota metanolové fixáže. Délka barvení Giemsovým barvivem 40 minut je dost dlouhá. Byl proveden test na optimální délku barvení?

Str. 24 – není uvedena hodnota projektivu, pouze objektivu (100X), takže si nelze učinit představu o vlastním zvětšení. „Klasifikace chromozómů... dle Levana“ není dána pravidly, ale (obecně přijatým) návrhem klasifikace chromozómů podle polohy centromery.

Str. 25 – „K finální analýze každého druhu.“ Ne! Cílem nebyl druh, ale chromozómy zástupců a jejich formální popis formou karyotypu!!!

Str. 25 – Popis reakční směsi pro PCR je nejasný, kolik se vlastně přidává do směsi primeru? V textu je uvedeno 1+1 mikrolitru.

Str.28 a dále –na obrázcích karyotypů chybí formální označení kategorií chromozómů, ač v textu popis je.

Str.30 –ne „vzorků“, ale jedinců.

Str.40 – Věta “Velká vnitrodruhová variabilita byla zjištěna...” neříká čehože byla variabilita zjištěna.

Str. 41 dole a 42 nahoře. Citace Mullera (1925) je velice stará a zcela neodpovídá novým zjištěním. V tomto případě by neškodilo studium přece jen novější literatury.

Str. 42 – Chci se zeptat, jak je možné, že nebyly v této studii zjištěny pohlavní chromozómy, když soupis analyzovaného materiálu obsahuje jenom samce?

Str. 45 – Závěr. Výše zmíněná otázka se vztahuje i poslednímu tvrzení v Závěru. Předposlední bod je formulován nejasně, přitom Obr. 13 a 14 k tomu dávají velmi dobré podklady. Proč toho nebylo využito, když je to vlastní (a velmi hezký) extrakt celé studie?

Str. 54 – Popis Tabulky 4 je nedostatečný, píše se analyzování jedinci, nepíše se jak analyzování. Přitom bylo na preparaci chromozómů použito celkem 20 samců, tabulka však obsahuje daleko více jedinců. To by možná dávalo tušit, že se jedná o jedince, z kterých byla extrahována DNA. Jak se však tento soubor liší, či překrývá se souborem jedinců užitých k preparaci chromozómů není zřejmé.

Závěr. Po odborné stránce, opakuji, je předložená studie ucelenou cytotaxonomickou studií několika druhů štírů jednoho rodu, navíc s významným pokusem získaná data interpretovat ve vztahu k fylogenii rodu založenou byť i na jediném genu. Principiálně se jedná o správný postup a shromážděná data jsou dobrým východiskem pro zpracování kvalitní časopisecké publikace. Na druhé straně ovšem textová část obsahuje řadu formulačních neobratností, vyniká terminologickou zkratkovitostí a celkově budí dojem, že text byl psán ve spěchu. To bohužel snižuje celkovou hodnotu předložené diplomové práce. Jako oponent jsem nyní před nesnadným úkolem navrhnout známku, na jedné straně bych nerad mladému panu kolegovi uškodil, na straně druhé však je třeba dbát na vysokou úroveň prací absolventů opouštějící učenou stolicí Karlovu. Po delším zvažování jsem dospěl k názoru, že přes některé zjevné formální problémy, nezaslouží práce strohé odmítnutí, ale spíše vlídné, i když káravé, přitakání. Navrhuji proto příslušné komisi klasifikaci 2 (nebo jak se to oficiálně nazývá).

Liběchov 14. 9. 2012

Petr Ráb