

Posudek na diplomovou práci Bc. Elišky Šrámové „Evoluce genetického kódu a taxonomie oxymonád“

Ve své diplomové práci se Eliška Šrámová věnuje nejméně studované skupině střevních bičíkovců, oxymonádám, konkrétně rodu *Monocercomonoides*. Ten je významný svou plesiomorfni morfologií a (velmi pravděpodobně ancestrálním) výskytem i mimo střevo termitů. Jeho výzkum může tedy vypovědět mnoho o rané evoluci oxymonád a metamonád obecně. Již na začátku je nutné poznamenat, že název práce je poněkud zavádějící, protože výzkum genetického kódu oxymonád představuje její poměrně malou část. Lepší by bylo částí názvu obrátit.

Autorka si stanovila čtyři cíle práce. Přitom není jasné, co vlastně znamená první cíl, tj. „shromáždit kultury kmenů rodu *Monocercomonoides* pro sbírku PřF UK“. O jakém shromáždění a o jaké sbírce je řeč? Jak bude uvedeno níže, řada, ne-li většina dostupných kmenů rodu *Monocercomonoides* byla získána nezávisle na autorce a již několik let tvoří součást sbírky prvoků Katedry parazitologie PřF UK v Praze. Zbylé tři cíle jsou již definovány zcela jasně a jsou vzhledem k zanedbanosti oxymonád poměrně ambiciózní, což hodnotím pozitivně.

Celková délka předložené diplomové práce je 75 stran, což podle názoru oponenta ideální délka. Práce je členěna standardně, na kapitoly Literární přehled, Materiál a metody, Výsledky, Diskuze a Závěrečné shrnutí. Text je poměrně čtivý, i když je na každé straně možné nalézt několik překlepů a gramatických chyb. Jejich výčet zde není uveden, jako příklady lze uvést „parakrystaliní“ (str. 10), „*Microohopalodina*“ (str. 10), „*Timastix*“ (str. 13), „koxymonádám“ (str. 14), „maximul“ (str. 15), „na povrch buňky jsou přítomny“ (str. 20), „chytinózní“ [str. 21; srovnej s „endokomensálních“, str. 10] a „*Eplotes*“ (str. 24). Úsměvné jsou „vysoká exprese ... protézy katepsinu B“ (str. 11) a „svlékající hormon“ (str. 13). Jména některých taxonů nejsou uvedena v souladu s konvencemi, např. *Bacteroidales* je správně uvedeno kurzivou, *Endomicrobia* nikoli, Polymastigidae je v abstraktu uvedeno kurzivou [uvádění citací v abstraktu nepovažuji za vhodné].

Literární přehled shrnuje na sedmnácti stranách problematiku morfologie, diverzity a fylogeneze oxymonád, a evoluce genetického kódu. Jedná se o nejproblematictější část práce. Je zřejmé, že se autorka příliš nechala inspirovat často citovanou dosud nepublikovanou kapitolou z připravované knihy Handbook of Protoctista, II. Ed., jejímž autorem (zde je

míněna kapitola) je školitel Elišky Šrámové; je otázka, zda je vůbec vhodné citovat dosud nepublikovanou práci. Při podrobném čtení kapitol 5.1 a 5.2, které tvoří převážnou většinu literárního přehledu, je podobnost rychle patrná, některé pasáže jsou dokonce pouze mechanicky přeloženy. Vystávají tedy pochybnosti, zda autorka skutečně četla publikace, jejichž citace pravděpodobně převzala ze zmíněné kapitoly. Další nedostatek Literárního přehledu je nedostatečné citování v několika pasážích. Již zmíněná kapitola totiž neobsahuje všechny citace potřebné pro předloženou práci. Např. věta „Známe i druhy žijící ve střevě larev tiplic a listorohých brouků (*Polymastix*, *Monocercomonoides*)“ (str. 10) [zde autorka navíc uvádí rody místo druhů] neobsahuje žádnou citaci, i když si jich několik zaslouží. Podobně věta „Bylo prokázáno, že termiti během svého nymfálního svlékání ztratí veškeré střevní prvoky“ (str. 13 – 14). Takovýchto pasáží by bylo možno uvést více.

Ostatní části práce zlepšují celkový dojem z práce. Podrobná Kapitola Materiál (16 stran) popisuje správně použité postupy a obsahuje pouze drobné nedostatky, např. nesmyslný název kapitoly 6.3.2. „Amplifikace α -tubulinu“. Kapitola 6.3.2 by se zřejmě měla jmenovat „Amplifikace genu pro α -tubulin“. Ani tak by ovšem název nedával smysl, protože předchozí kapitola 6.3.1 se jmenuje „Amplifikace DNA“ a zabývá se amplifikací genu pro SSU rRNA (který navíc autorka mylně považuje za „gen pro malou ribozomální podjednotku“). V návodu na kultivaci prvků (kap. 6.1.2) není uvedena teplota, což je vzhledem k tomu, že byly kultivovány izoláty jak z poikilotermních, tak z homoiotermních hostitelů, podstatný údaj. Nejsou citováni autoři primerů použitých při amplifikaci genu pro α -tubulin.

K metodice mám následující otázky:

1. Uvedená délka alignmentu α -tubulinu 677 aminokyselin (str. 40) se mi zdá příliš velká. Nejedná se ve skutečnosti o 677 nukleotidů, jak je uvedeno v diskusi?
2. Kolik nezávislých analýz při hledání topologie ML stromu bylo provedeno v programu RAxML (= byl použit parametr #)?
3. Jak byly nastaveny parametry modelu GTR + I + Γ v programu PAUP?

Kapitola Výsledky (11 stran) dokumentuje, že si autorka osvojila řadu laboratorních metod a dokázala je použít při výzkumu tak problematického taxonu, jako je *Monocercomonoides*. Je zjevné, že ke splnění vytyčených cílů věnovala značné úsilí a to, že v některých případech

neuspěla, je dáno spíše obtížností zadání, které ovšem nemohlo být dopředu předpokládáno. I tak je množství získaných dat více než dostatečné.

Jako problematickou vnímám kapitolu 7.1 „Izoláty DNA“. Vůbec zde není uveden původ většiny kmenů (některé izoloval i oponent). Dále není pravda, že kmen VAV1B byl poskytnut prof. Vávrou (kmen poskytl oponent). Nedomnívám se, že kmeny B1-10, CYRT a MALA zanikly, protože nebyly dostatečně stabilní. Nezávisle na autorce byly kultivovány po dobu několika měsíců a nejevily žádné známky nestability. Kromě toho kmen CYRT nezaničil, je uložen v kryobance Katedry parazitologie PřF UK (zamraženo 16. 12. 2002, původní umístění LOCATOR 6/1/9L). V tab. 26 není jasné, co znamená „kmeny dlouhodobě vedené v kulturách“. Domnívám se, že tato poznámka by měla být uvedena i u kmenů ARCH1, BOA, CAVIA-M, CYRT, MALA, OEV a Velká. Některé z nich byly před zamražením udržovány v aktivním stavu po stovky pasáží (tj. několik let). Podle mého názoru by kapitola 7.1 neměla být součástí výsledků, ale metodiky, protože neobsahuje žádná nově získaná data, ovšem s uvedením původu použitých kmenů.

K výsledkům mám následující otázky:

4. Autorka na str. 43 uvádí, že v kulturách byly přítomny i diplomonády. O které kmeny a diplomonády se jednalo?
5. Jaký byl rozdíl hodnot „likelihood“ nejlepší nalezené topologie a ostatních topologií použitých v AU testu?
6. Je z literatury známo, že by se v termitech druhu *Neotermes cubanus* vyskytovali zástupci čeledi Oxymonadidae? Na základě čeho se autorka domnívá, že získaná sekvence patří rodu *Oxymonas*?

Diskuse (5 stran) je čtivá a mám k ní pouze několik poznámek. Autorka uvádí, že se všeobecně tvrdí, že kultivace zástupců rodu *Monocercomonoides* je velmi obtížná. Je škoda, že nijak necituje autory, kteří to tvrdí. Poměrně snadno se dá dohledat, že tomu tak není. Také není pravda, že jediným publikovaným izolátem rodu *Monocercomonoides* je PA203 z činčily. Kapitola 8.3 (Morfologie izolátů rodu *Monocercomonoides*) je z taxonomického hlediska nedostatečná, zejména u kmenů z plazů a skotu. V práci je především hrubě podceňeno množství popsáných druhů (např. z plazů jich bylo popsáno mnohem více než 5), z čehož vyplývá, že autorka srovnávala kmeny, které morfologicky charakterizovala,

s nedostatečným počtem druhů. Je ovšem potřeba dodat, že to v žádném případě není chyba autorky ani školitele. Osvojit si taxonomii snad nejproblematictějších střevních bičíkovců nutně musí zabrat víc času než jedno magisterské studium. Domnívám se, že v současné době není nikdo schopen provést smysluplnou taxonomickou studii rodu *Monocercomonoides*. Seznam literatury na konci diplomové práce není zcela jednotný v uvádění zkratk časopisů, to je však problém naprosté většiny diplomových prací a nepovažuji jej za zásadní.

K diskusi a závěru mám následující připomínky/otázky:

6. Kromě drobné zmínky ve Výsledcích na str. 43 zcela chybí diskuse o volně žijícím zástupci rodu *Monocercomonoides*. Přitom se teoreticky jedná o první známou volně žijící oxymonádu. Mohla by autorka toto krátce komentovat?

7. Autorka v Závěrečném shrnutí uvádí, že se jí povedlo stabilizovat 11 kultur různých kmenů rodu *Monocercomonoides*. Které kmeny to jsou? A jakým způsobem je stabilizovala?

Přes uvedenou kritiku vzbuzuje předložená práce jako celek pozitivní dojem, přičemž však Literární úvod má nižší kvalitu než ostatní části. Je jasné, že získané výsledky, jejichž kvantitu i kvalitu považuji z hlediska magisterského projektu naprosto dostatečnou, představují teprve začátek dlouhé cesty, na jejímž konci se snad někdy objeví taxonomická studie rodu *Monocercomonoides*. To je však dáno značnou náročností řešené problematiky. Diplomovou práci Bc. Elišky Šrámové doporučuji k obhajobě.

RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.

Katedra zoologie PřF UK

Viničná 7

128 44 Praha 2