

Posudek na bakalářskou práci Kláry Doubnerové „Rešerše ke studiu molekulární fylogeografie mravence *Crematogaster polita* (Hymenoptera: Formicidae)“

Vypracoval Mgr. Oldřich Říčan, PhD

Práce Kláry Doubnerové „Rešerše ke studiu molekulární fylogeografie mravence *Crematogaster polita* ...“ vznikla jako rešerše na základě neúspěchu v původním záměru, jímž byla fylogeografie a tedy práce praktická, laboratorní.

Práce jeví známky kvapného sepisování, které je důsledkem přesunu od praktické práce k rešerši. Struktura práce je zvolená nešťastně, a je nehotovou chimérou praktické práce a rešerše. Zevrubně se práce tváří jako rešerše. Chybí jí ale veškerý úvod (až na necelou stránku) a navedení do problematiky. Velmi v úvodu postrádám přiblížení tématu a příčiny (zajímavosti) jeho studia. Není nastíněno na jaký typ výzkumu má práce navazovat, zda se jedná o zcela novou studii v neprobádané problematice nebo či je to práce řešící jedno z mnoha podobných standardních témat. Jelikož je úvod velmi strohý, nemohu na něj moc reagovat, ale je dle mého názoru velmi nedostatečný. Považují ho u práce rešeršního typu za stěžejní.

Hned po necelé stránce úvodu následují cíle práce, které se ale vůbec nevztahují ani k úvodu, ani k obsahu práce ani k jejím závěrům.

Kladem práce jsou kapitoly 2 a 3, popisující vlastnosti molekulárních markerů a fylogenetických metod. Jsou to bohužel jediné části práce mající rešeršní povahu. Úvod práce jak uvedeno v podstatě chybí, stejně jako vyvrcholení rešerše, vůbec nejzásadnější část.

*V kapitole pojednávající o barkodingu vidím jeden nedostatek. Chybí mi pojednání o druhovém konceptu, na který autorka v celé práci ani jedinkrát nenaráží, je ale pro její práci zcela stěžejní. Je velmi pravděpodobné, že je zastávkou fylogenetického konceptu druhu (ale které jeho frakce?...), možná aniž by si to sama uvědomovala. To ale z práce není poznat, např. na obr. 2 by se zastánci různých druhových konceptů dívali velmi rozdílně (vlastně si nejsem jist co obrázek bez diskuze druhového konceptu vlastně má ukazovat: např. některé druhové koncepty neuznávají „parafyletické“ druhy, z nichž jeden je na obrázku 2 naznačen). Můj názor je, že bez toho, aby autorka jasně formulovala a obhájila který druhový koncept v práci používá je velká část polemiky (nejen o DNA barcodingu) zcela neuchopitelná.*

*Za kladné považuji rozpracování doposud používaných markerů pro budoucí vlastní studium autorky (v tab. 1 by se ale hodilo vyjádřit poměr informativních pozic v procentech).*

*Nevím proč je kapitola 3.4. nazvána „Statistické metody“. Měla by se jmenovat fylogeografické metody, např. na TCS není o mnoho víc statistiky než v PAUPu.*

Poslední kapitola („4. Závěr“), kde by člověk očekával vyvrcholení rešerše, je rozpolcená do dvou nesourodých podkapitol. Druhá z nich, závěrečná shrnutí, je logickým vyvrcholením rešerše (i když opět navazující pouze na metodické kapitoly 2 a 3). Netýká se tedy biologické zajímavosti projektu, tak jako toto chybí i v úvodu.

První část kapitoly „Závěr“ je pak nejslabším bodem celé práce. Tato krátká dvoustranná kapitola pojednává o práci v terénu a v laboratoři a o jejím neúspěchu. Považuji za nesprávné umístit statě o laboratorním nezdaru do závěrečné kapitoly, neboť se zcela jistě o závěr nejedná. Jsou to spíše příčiny toho že práce je rešerší, a jako taková je na špatném místě (ve špatném pořadí).

Práce se vzorky (tedy „závěr“ ?) je podle mě statí, kde je zakopaný onen pověstný pes a příčina všech malérů. Autorka jen velmi zevrubně na necelé jedné straně popisuje metodiku izolace DNA, ale tato kapitola zcela postrádá detailní popis laboratorních protokolů, rozbor příčin i následného selhání laboratorní práce. Dovolím si tedy vyvodit co pro mě jako oponenta z poskytnutých informací plyne a co tedy v práci chybí, přestože právě toto by mohlo mít onu kýženou rešeršní povahu.

Vše začíná tím, že v práci je jasně uvedeno, že vzorky mravenců byly uchovávány v 70-98 % lihu.

Pro fixaci biologického materiálu pro molekulární analýzy se nepoužívá „láh“ ale chemicky čistý etanol, a to vždy o koncentraci 95-98 %, v tropických podmínkách především. Fixace biologického materiálu je pro práci s DNA naprosto zásadní. V této práci je symptomatické, že byla porušena snad veškerá pravidla. Je velmi důležité zdůraznit, že problém nastal ještě před zadáním práce a to při terénním sběru, a je tedy chybou školitele, který materiál sbíral. Svědčí pro to veškeré indicie uvedené v práci. Materiál byl 1) fixován v „papuánském lihu“, jak mi sám školitel prozradil, tj. v lihu nekvalitním, o nízké koncentraci (viz. výše) a možná bůh ví čím denaturovaném. 2) Vzorky nebyly ukládány do ependorfeček po jednom mravenci při zachování alespoň desetinásobného přebytku fixačního média (pro tropy se doporučuje více než patnáctinásobný objem). Ba právě naopak, ependorfy byly zcela plné mravenců, s nedostatkem fixáže (dolití už zde samozřejmě nic neřeší). 3) Do tropů je vždy dobré investovat nejen do kvalitního etanolu, ale také do kvalitních a dobře těsnících ependorfeček a velmi důležité je zamezit hned jak je to možno dalšímu odparu tím, že jsou vzorky uloženy do mrazáku.

Souhra těchto faktorů v podstatě zamezila možnosti dostat z tkání DNA, ale hlavně, i to málo DNA co se podařilo izolovat je velmi pravděpodobně degradováno, a byl bych velmi překvapen, kdyby PCR na těchto vzorcích fungovala. Chyby se jak známo sčítají, a pokud je tedy problém už v izolaci, PCR bude o to horší a nízké kvality, a sekvenační reakce už je v podstatě nemožná. Zbývá pak podobně mravenčí práce jako sekvenace fosilní DNA, což už ale opravdu není téma na bakalářskou práci na pracovišti, které na to není vybavené.

Praktická práce tak dle všech indicií byla odsouzena k problémům už od počátku.

Jsem toho názoru, že kompozice práce je doménou školitele, pokud ne prvoplánově, tak zcela určitě ve fázi kontroly toho co student stvoří. Zadání práce už ale nemůže být

doménou nikoho jiného než školitele. V této práci se tak setkaly chyby školitele hned na dvou frontách, v zadání práce (tj. materiál a jeho sběr a fixace; laboratorní práce navíc není školitelovou doménou) i v kontrole logiky a kompozice vzniklého textu. Nebyl jsem zcela mimo dění, když probíhaly laboratorní práce na této bakalářce a vím kolik práce v laboratoři do ní studentka investovala. Bohužel, v práci toto opět není reflektováno, laboratorní práci je věnováno jen méně než jedna stránka a studentka se tak nemůže opřít ani o množství vykonané práce.

Většina kladných bodů práce se týká rešeršního rozboru fylogenetické metodologie a molekulárních markerů, zatímco biologická zajímavost v práci není vůbec. Záporné body pak vidím hlavně v nehotovosti textu a obsahu rešerše a v nedostatečném rozsahu praktické části, která navíc nemá rešeršní povahu.

Práce je tedy ne zcela povedenou kombinací dvou světů a je mi trochu líto, že tíže padá na studentčina bedra, protože jsem toho názoru, že by většina nedostatků a chyb práce měla padnout na bedra školitelova, který není přítomen u obhajoby (aby mohl studentku bránit proti všetečným oponentům) a který navíc v době sepisování a klíčového zlomu v povaze práce dlel na opačné straně glóbu.

Navrhuji známku „velmi dobře“, s tím předpokladem, že obhajoba bude přesvědčivější a s logičtější strukturou než vlastní práce.

V Českých Budějovicích  
19. 5. 2008  
Oldřich Říčan



Annotation:

Stálo by za to nechat si zkontrolovat angličtinu, v této podobě to velmi tahá za vlasy.