

Oponentský posudek na bakalářskou práci Marty Cinkové

Posouzení vhodnosti mitochondriálních dat pro odhalování fylogenetických vztahů myxosporeí

Bakalářská diplomová práce Marty Cinkové se zabývá studiem mitochondriálních genů kmene Myxozoa neboli výtrusenek, respektive použitelností sekvencí mitochondriálních genů myxosporeí – jedné ze dvou podskupin myxozoi – pro studium fylogenetických vztahů těchto parazitů. Navazuje tak na intenzivně studované téma v rámci Oddělení eukaryotických mikroorganismů infikujících ryby na Parazitologickém ústavu Biologického centra AV ČR, v.v.i. v Českých Budějovicích. Téma této práce je velmi závažné a ve studiu evoluce eukaryot aktuální neboť Myxozoa i v době pokročilé molekulární fylogenetiky stále představují enigmatickou skupinu s nevyjasněnými příbuzenskými vztahy jak s ostatními bazálními skupinami mnohobuněčných živočichů, tedy metazoi, tak i v rámci skupiny samotné.

Bakalářská práce je psaná v českém jazyce, členěná na úvod, metodiku, cíle, výsledky, diskuzi, závěr, seznam použité literatury a dvě přílohy o celkovém rozsahu 40 stran. K práci jako celku nemám podstatných výhrad, neodpustím si však několik upřesňujících dotazů či poznámek k diskuzi, vedených mimo jiné mou omezenou znalostí studované problematiky:

– z formulace názvu ani z cílů jasně nevyplývá, jestli cílem práce bylo hledat vhodný molekulární marker pro studium fylogenetické pozice skupiny Myxosporea mezi ostatními bazálními skupinami metazoi či studium příbuzenských vztahů v rámci myxozoi. To mi přijde jako relevantní informace zejména pro hodnocení dosažených výsledků.

– v úvodu (str. 5) autorka uvádí, že mitochondrie myxosporeí mohou mít i jiný než trubicovitý tvar. Existují tedy mezi výtrusenkami skupiny s odlišnou morfologií krist mitochondrií? Mohla by to autorka více rozvést?

– v metodice (str. 20) postrádám seznam či tabulku accession numbers sekvencí 16S rDNA stažených z databáze NCBI a alespoň hrubé taxonomické zařazení těchto organismů. Velmi by to ulehčilo orientaci ve výsledných fylogenetických stromech. Dále by jistě bylo zajímavé vědět, s jakými všemi zástupci myxosporeí bylo pracováno. Pokoušeli jste se např. sekvenovat nějakého ze zástupců Malacosporea?

– v metodice (str. 20) a ve výsledcích (str. 21) autorka uvádí, že alignment 16S rRNA genu byl sestaven ze získaných sekvencí myxozoi a doplněný o 28 sekvencí 16S žahavců a 3 sekvencí houbovců z databáze NCBI. Byl takovýto alignment sestaven za účelem určení pozice myxozoi mezi dalšími skupinami metazoi? Pokud ano, proč alignment neobsahuje sekvence 16S dalších, myxozoi blíže příbuzných skupin metazoi, jako např. Ctenophora, Placozoa či bazální zástupce Eumetazoa?

– v metodice ani nikde dále není uvedeno, z jakého alignmentu byly konstruovány fylogenetické stromy ve výsledcích. Byl to alignment uvedený v příloze 2? Nebo byl tento alignment ještě dále upravován?

– na obrázku 3-7 bych přivítal detailnější popis parametrů, kterými byly stromy konstruovány. Např. v metodice je možné se dozvědět, že pro konstrukci ML stromu byl zvolen evoluční model likelihood ratio testem v programu Modeltest, nicméně o jaký model konkrétně šlo, zůstává utajeno.

– za nejzajímavější část považuji kapitolu 4.2 shrnující neúspěšné pokusy o amplifikaci několika vybraných částí mitochondriálního genomu zahrnujících několik mitochondriálně kódovaných protein-kódujících genů. Sám si ze své zkušenosti dovedu představit, nakolik frustrující může takovéto množství negativních výsledků být. Nicméně bych se rád dotázal, na přesnější informace ohledně designu primerů pro amplifikaci těchto úseků. Na základě jakých sekvencí byly primery navrhovány a v jakých částech mitochondriálního genomu byly situovány? Máte nějaké vysvětlení, proč se vám nepodařilo žádný z těchto úseků mitochondriální DNA amplifikovat?

Závěrem bych konstatoval, že předkládaná bakalářská práce plně vyhovuje požadavkům pro bakalářské práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a vřele ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, dne 25. května 2010



RNDr. Jan Brabec