

Oponentský posudek

na bakalářskou diplomovou práci **Martiny Slámové**

Aplikace barcodingu na rod *Folsomia* (Collembola) a mitochondriální genom *F. candida*

Práce Martiny Slámové se zabývá využitím úseku mitochondriální DNA (mtDNA), genu pro cytochromoxidázu I (COI), pro identifikaci druhů u taxonomicky obtížné skupiny chvostoskoků a detailní analýzou celé mtDNA u modelového druhu *Folsomia candida*. Tato problematika byla školitelkou zadána ve spolupráci s vynikajícím odborníkem na chvostoskoky, prof. J. Ruskem, a výběr tématu se tudíž vyznačuje profesionalitou a příkladnou motivací s výhledem na řadu aplikací v řešení zejména taxonomických, ale i ekologických otázek.

Úvod práce je stručný, jasný a výstižný, dobře charakterizuje studovanou skupinu organismů, základní vlastnosti mtDNA i současný význam mtDNA pro identifikaci druhů. Cíle práce jsou jasné definovány, ale osobně dávám přednost spojitému textu místo výčtu dílčích cílů v bodech.

V kapitole Materiál a metody jsou přesně a dostatečně detailně popsány všechny použité techniky a metodické přístupy včetně původu a získání a původu studovaných druhů. Kapitola je vhodně doplněna několika tabulkami a ilustračními obrázky. Mám jednu otázku:

- str. 7 – proč byla při extrakci Chelexem DNA a extrakčním pufrům inkubována při 98°C?

Kapitola Výsledky je rozdělena do tří částí – v první části autorka stručně srovnává 4 metody extrakce DNA a uvádí jako nejvhodnější použití extrakčního pufru dle prací Cox & Hebert (2001) a Frati *et al.* (2001). Druhá část obsahuje výsledky vlastní sekvenční analýzy mtDNA a její využití pro „barcoding“. Autorka úspěšně amplifikovala a analyzovala sekvence genu COI u 5 z 8 studovaných druhů rodu *Folsomia*, zpracovala přehled zjištěných haplotypů a stanovila vnitrodruhové a mezidruhové vzdálenosti u studovaných vzorků. Výsledky demonstrovala též formou názorného dendrogramu. Ve třetí části jsou prezentovány výsledky úspěšné analýzy přibližně 2/3 mitochondriálního genomu druhu *F. candida*, na jejichž základě autorka sestavila genomovou mapu. Jednotlivé skupiny hlavních genů mtDNA jsou blíže charakterizovány formou tabulek nebo v případě genů pro tRNA schematickými nákresey sekundárních struktur kódovaných tRNA. Ke zpracování výsledků mám jedinou kritickou připomínku:

- str. 16, Obr. 3 – jako „outgroup“ byl použit druh *Podura aquatica* bez bližšího taxonomického zařazení; jedná se též o chvostoskoka? Co znamenají čísla u jednotlivých větví kladogramu?

Diskusi považuji za nejlepší část práce. Autorka v ní detailně a kriticky zhodnotila dosažené výsledky. Na základě srovnání vnitrodruhové a mezidruhové variability sekvencí genu COI prokázala použitelnost „barcoding“ a naznačila možnost výskytu kryptických druhů u *F. quadriocollata*. V závěrečné části diskuse srovnala mtDNA genom se známými genomy 2 druhů chvostoskoků a mtDNA *Drosophila yakuba* a poukázala na přesuny v pořadí některých genů mezi těmito druhy. Zaujala mě velká podobnost struktury mtDNA mezi chvostoskokem *Gomphiocephalus hodgsoni* a *D. yakuba*, a naopak odlišná pořadí několika genů u larvénky obrovské, *Tetradontophora bielensis*.

Doplňkové dotazy k diskusi:

- Má autorka nějakou hypotézu (nebo ví o hypotézách) o možném mechanismu přesunů či přestavby pořadí genů během evoluce mtDNA? Jakým mechanismem by teoreticky mohl být vysvětlen přesun genů u známých mtDNA chvostoskoků?
- Jak bylo či bude naloženo se získanými údaji o sekvencích COI studovaných druhů a mitochondriálním genomu *Folsomia candida*? Byly nebo budou tyto údaje předány do příslušných databází?

Drobné formální připomínky:

- v anglickém názvu práce i angl. anotaci je chyba – místo „geonome“ má být „genome“; anotace vyžaduje drobnou revizi anglického slohu;

- str. 1 – citace „(Engel & Grimaldi, 2004)“ má být před středníkem a ne za středníkem; na stejném řádku je hrubka – má být „chvostoskoci byli“ a nikoliv „byly“;
- str. 1 – chvostoskoci se oddělili od linie, která vedla ke hmyzu, je zbytečné uvádět „k vyššímu hmyzu“;
- str. 2 – citace „Van Straalen, 1997“ má být „Van Straalen & Lokke, 1997“;
- str. 2 – citace „Boore *et al.* 1995“ má být „Boore & Brown, 1995“;
- str. 3 – v citacích prací „Hebert *et al.*“ je zmatek; v textu je „Hebert *et al.*, 2003a,b“ a „Hebert *et al.*, 2004“, ale v seznamu literatury je uvedena pouze jedna práce z r. 2003 a naopak 2 práce z r. 2004;
- str. 3 – v citaci „Hajibabei“ je chyba, má být „Hajibabaei“;
- str. 3 – citace „Janzen *et al.*, 2005“ chybí v seznamu literatury;
- str. 7, kap. 3.1.2. (též částečně v následujících kapitolách) – metrické jednotky by měly být odděleny mezerou od čísla a v češtině se desetiny oddělují čárkou, nikoliv tečkou (viz „14.5g“); „sloupeček“ je milý laboratorní žargon, ale měl by být vyjádřen odbornou terminologií, taky by měl být specifikován;
- str. 10, kap. 3.3. – *Taq* se píše kurzívou;
- str. 29-32 – Literatura:
 - o „Boore J.L., Staton J.L. (200)“ chybí rok;
 - o citace nejsou psány stejným stylem, někde je kromě ročníku zbytečně uvedené i číslo časopisu, časopisy jsou někdy psány zkratkami a jindy vypsány celým názvem;
 - o „Coroau Y.“ má být správně „Crouau“;
 - o co znamená „d“ na konci citace „Delsuc F., Philips M.H., Penny D. (2003)“?
 - o U 2 citací „Hebert *et al.* (2004)“ chybí rozlišení písmenky „a“ a „b“.

Z á v ě r

Autorka splnila zadané cíle práce; osvojila si řadu molekulárních i populačně genetických metod a získala kvalitní původní výsledky. Práce je velmi dobře a srozumitelně napsána a nezjistil jsem v ní žádné závažnější odborné nedostatky. Drobné formální nedostatky pramení z nezkušenosti s psaním odborných textů a zřejmě i z časového stresu při snaze dodržet termín odevzdání práce, nesnižují ale originalitu a kvalitu dosažených výsledků.

Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji její hodnocení klasifikačním stupněm **v ý b o r n ě**.

V Českých Budějovicích, dne 24.1.2008



František Marec