

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Hany Maškové „Biosystematická studie okruhu *Carlina vulgaris* ve střední Evropě s využitím molekulárních a morfometrických metod.“

Práce Bc. Maškové se zabývá studiem vztahů mezi zástupci agregátu *Carlina vulgaris* v České republice a střední Evropě. Do této skupiny jsou tradičně řazeny čtyři taxony, kterých klasifikace na druhové, případné poddruhové úrovni není úplně jasná a vyžaduje revizi. Za tímto účelem provedla kandidátka sérii molekulárních a morfometrických analýz. Za výjimečně zdařilou považují práci zejména po grafické stránce, použité obrázky dosahují téměř profesionální úrovně. Velikost studovaného vzorku, geografická oblast sběrů i zařazení rostlin do tzv. pracovních skupin byla zvolena vhodně. K provedení morfometrických analýz nemám žádné výtky. Hodnotím obzvláště pozitivně fakt, že byli srovnáváni jednak jedinci pěstovaní za standardizovaných podmínek na experimentální zahradě, tak i rostliny pocházející z přímo z přirozených stanovišť. Bohužel část práce věnovaná molekulárním analýzám je podstatně slabší. Použité molekulární markery (sekvence exonů, navíc silně konzervované v rámci celé čeledi!) nepovažují za vhodně zvolené. Kandidátka, potažmo celý tým řešitelů, měla před začátkem řešení práce k dispozici informace o morfologické variabilitě v rámci agregátu a věděla o možnosti genového toku mezi jednotlivými taxony. Když se k tomu přičte relativně omezený geografický záběr a taxonomická úroveň, na které jsou jednotlivé taxony rozlišovány, měly být použity markery standardně používané na vnitrodruhové úrovni (např. AFLP, RAD-seq, mikrosatelity). I přesto, že autorka ukázala nemalé úsilí a provedla celou řadu, časově určitě velice náročných, analýz, nelze tyto výsledky považovat za úplně relevantní. Nedostatečná variabilita použitých markerů má za následek absenci jakékoli struktury v rámci dvou hlavních skupin. Autorce se nepodařilo najít rozdíly ani mezi vzdálenými a pravděpodobně delší dobu izolovanými populacemi *C. biebersteinii* subsp. *biebersteinii* z Alp, Karpat a českých reliktních stanovišť. Také vymezení výše zmíněných hlavních skupin není tak jasné jak je v práci prezentováno. Pro jednu ze skupin nebyla získána podpora v žádné z prezentovaných analýz a pro tu druhou pouze v jejich menší části. Na druhou stranu možnosti analýzy dat nebyly úplně vyčerpány. Nebyly analyzovány čistě intronické sekvence, nebyly z analýz vyloučeny vzorky, které měly intermediární pozici, a tudíž by se mohlo jednat rostliny hybridního původu, nebyly analyzovány vztahy v rámci hlavních skupin pro každou z těchto skupin zvlášť, atd.

I přes veškeré výše zmíněné nedostatky považují práci za vhodnou k obhajobě a hodnotím ji známkou 2.

V Praze 28.8.2018

Karol Krak

Otázky k obhajobě:

1. Proč nebyly pro fylogenetické analýzy použity žádné taxony mimo studovanou skupinu, tzv. outgroup? Použití outgroupu je ve fylogenetice standardem, umožňuje lépe odhadnout variabilitu markerů a testovat zda je cílová skupina monofyletická. V práci prezentujete existenci dvou hlavních evolučních linií, ale jedna z nich *C. beibersteinii* susp. *beibersteinii* fakticky nemá signifikantní podporu ani v jedné z analýz a ta druhá pouze u některých z nich. Hodnoty bootstrapů pro fylogenetické sítě nebyly vůbec prezentovány. Je možné i za těchto okolnostech mluvit o existenci dvou skupin?
2. Proč jste se rozhodla použít metodu Hyb-seq založenu na porovnávání variability u konzervovaných exonových sekvencí a ne jinou metodiku založenou na variabilnějších molekulárních markerech (RAD-seq, mikrosatelity a nebo AFLP)? Jaké by byly výhody a limity použití těchto metod u Vaší skupiny?
3. Proč nebyly analyzovány vztahy v rámci každé z hlavních skupin zvlášť? Máte k dispozici odhady distribuce chybějících dat pro celý datový soubor a pro obě podskupiny zvlášť? Nebyla by proporce chybějících dat v rámci každé z hlavních skupin menší a nebylo by proto možné analyzovat větší počet lokusů, a získat lepší odhad vztahů v rámci skupin? Proč nebyly analyzovány čistě intronové sekvence? Proč nebyly z analýz vyloučeny taxony vykazující intermediární pozici mezi hlavními skupinami? Zařazení jedinců hybridního původu, může snížit výslední hodnoty bootstrapů jednotlivých rodičovských linií...
4. Jaká je morfologická diference mezi rostlinami *C. vulgaris* subsp. *vulgaris*. a *C. beibersteinii* subsp. *brevibracteata*. Lze je rozlišit na základě morfometrických analýz?
5. Jaké taxonomické řešení byste navrhla pro celou studovanou skupinu, pokud by byla potvrzena existence Vámi popsanych dvou genetických linií?