Posudek na diplomovou práci Magdaleny Stuchlíkové

Diplomová práce Magdy Stuchlíkové se zabývá velikostí genomu v evoluci švábů. Autorka si vytyčila tři základní cíle, a to naměřit co největší počet velikostí genomu různých druhů švábů, porovnat rozdíly ve zjištěných hodnotách mezi pohlavími a zasadit výsledky do známých fylogenezí skupin. Diplomová práce je čtivá a psaná velmi kultivovaným jazykem s minimem stylistických a pravopisných chyb.

Autorce se podařilo nashromáždit nevídané množství jedinců jak z přírody, tak z kultury a provést velké množství analýz, které bych se nebál srovnat s objemem analýz v běžném grantovém projektu. Nicméně na samotné zpracování získaných dat již takovou chválu pět nemohu.

Při **vyhodnocování rozdílů** ve velikosti genomu určitě není vhodné pro porovnání používat absolutní čísla v pikogramech – ta jsou nicneříkající, vždy je nutné používat relativní srovnání. A zde je nutné ještě uvažovat nejen statistickou průkaznost rozdílů, ale také její smysluplnost. Metoda měření velikosti genomu pomocí průtokové cytometrie má sama o sobě určitou chybovost, která by měla být při slovním hodnocení rozdílů zohledněna. Udává se, že rozdíly pod 2(–3)% nejsou reálně změřitelné a počítá se s nimi jako s artefaktem metody. Jako jediný důkaz rozdílu blízkých hodnot velikosti genomu je považována simultánní analýza dvou vzorků. Pokud na histogramu vyjdou dva zřetelně odlišitelné píky, pak má rozdíl i menší než 3% reálný podklad. V analýze dat samotných bych rád viděl více statistických testů. U rostlin se běžně dělá ANOVA a nějaký post-hoc test, výsledky pak mohou být mnohem lépe interpretovatelné.

Co se týče **rozdílů mezi pohlavími**, jejich rozsah a variabilita je famózní a tak velký jsem ho opravdu nečekal (tj. rozdíl 0,1% až 6,8%). V této části znatelně chybí návaznost na chromosomová čísla či karyotypy jednotlivých druhů, ale je to pochopitelné, protože tyto údaje nejsou u většiny taxonů k dispozici. Nicméně s jejich zahrnutím by analýza mohla být dokonalejší (daly by se ověřit např. předpokládané rozdíly ve velikosti genomu mezi pohlavími u druhů s menším počtem chromosomů či s většími chromosomy).

Vyhodnocení **rozdílů mezi skupinami** se mi jeví jako další problematická část práce. Statistická analýza výsledků není jednoznačná, protože bylo počítáno v analýzách dohromady jak s hodnotami pro samce, tak s hodnotami pro samice (formou průměru pro daný druh ze všech měření). U neznámého pohlaví či v případě, že bylo k dispozici pouze jedno pohlaví, byla použita pouze tato částečná data, nikterak nekorigovaná. Vzhledem k tomu, jaké mohou být rozdíly mezi pohlavími (viz výše), mohlo dojít k znatelným posunům hodnot velikostí genomu. Výsledky pak nemusí být porovnatelné a signifikantní. Rozhodnutí jakým způsobem budou zpracována data je však nutné učinit již na začátku zpracování výsledků, možná již při zadání práce. Osobně bych se přiklonil buď pro separátní analýzu jednotlivých pohlaví (čímž by se počet statistických analýz téměř zdvojnásobil, nicméně hodnoty by byly více vypovídající) nebo se rozhodl využít pouze hodnot jednoho, ve výsledcích četněji zastoupeného, pohlaví. Vzhledem k tomu, že je k většině druhů k dispozici jak samčí tak samičí hodnota, ale spíše je více samičích (přiznám se, že jsem přesně nepočítal), tak bych se rozhodl pro samičí hodnotu. S druhou možností se samozřejmě pojí fakt, že část výsledků by byla nevyužita anebo využita později.

Práce bohužel trpí absencí kvalitní **fylogeneze celé studované skupiny**. V případě, že by existovala, bylo by možné data využít pro statistické zhodnocení korelace mezi velikostí genomu a fylogenezemi (např. v programu BayesTraits). Možná to mohla autorka vyzkoušet alespoň na části datasetu s kvalitním fylogenetickým stromem, nicméně musím potvrdit, že proniknout do této analýzy není úplně jednoduché a chápu, pokud se do toho nechtěla pouštět. Minimálně by se dalo alespoň zapracovat na lepším grafickém znázornění či prezentaci výsledků, které by např. zahrnovalo existující fylogenetické stromy dílčích skupin spolu s rozsahy či průměrnými hodnotami pro danou větev.

V posudku opomenu zanedbatelné technické nedokonalosti práce, protože z tohoto hlediska působí velmi dobrým dojmem. Nicméně občas něco uteklo, např. někde nesedí čísla velikostí genomu (při prezentaci rozdílů samec 2C = 4,70 pg, samice 2C = 5,27 pg není absolutní rozdíl pouhých 0,13 pg, ale 0,57 pg).

I se zohledněním výše uvedených nedostatků hodnotím práci Magdaleny Stuchlíkové jako nadprůměrnou a hodnotím stupněm velmi dobře (2). Práce má vysoký potenciál pro pokračování, např. cestou rozšíření datasetu a zdokonalením statistického zpracování. Určitě bych se snažil dále působit na zjištěný rozdíl mezi kontinentálními a ostrovními druhy podčeledi Oxyhaloinae či kryptické taxony rodu *Rhabdoblatta*, zde vidím do budoucna velký publikační potenciál.

Pro obhajobu mám následující otázky:

1) Každý vzorek byl pro potřeby práce analyzován celkem dvakrát, a to ve dvou po sobě následujících dnech, s cílem ověřit přesnost měření. Bohužel součástí práce nejsou přílohy s naměřenými/primárními daty. Jaké tedy byly běžné a extrémní rozdíly mezi měřeními a čím mohly být způsobeny? Jaká byla hranice, kdy už dvě měření nestačila a musel se vzorek přeměřit ještě potřetí?

2) Jakým způsobem byly ověřovány rozdíly mezi měřeními dvou blízkých hodnot (např. rozdíly uvnitř druhů). Byly prováděny, alespoň u některých skupin, simultánní analýzy? Byl u některé skupiny proveden screening většího počtu jedinců pro zhodnocení šíře variability (zvláště pokud již několik měření variabilitu vykazovalo)? Vím, že je to těžké, protože ne vždy jsou k dispozici rozdílní jedinci zároveň v jednu dobu, nicméně pro tyto účely lze s úspěchem použít chovaná zvířata.

3) Autorka v práci píše, že pro šváby je „charakteristická značná ekologická, morfologická i behaviorální diverzita, která skýtá zajímavé možnosti pro korelace s velikostí genomů“. Proč nebyla zařazena analýza těchto snadno dostupných dat pro analýzu korelace s velikostí genomu jednotlivých druhů? Případně má autorka nějaká data k dispozici či se dá ze stávajících dat nějaká korelace (alespoň okometricky) vysledovat?

4) V práci komentujete načrtnuté fylogeneze a rozsahy velikostí genomu v daných skupinách. Na rozsah velikostí genomu mohou působit i jiné než zmíněné mikroevoluční procesy. Nemůže souviset konzervace či vysoká variabilita ve velikosti genomu některých skupin např. i se stářím taxonů, probíhající radiací apod? Případně jaké další vlivy na změnu velikosti genomu lze očekávat?

V Praze dne 31. srpna 2020 RNDr. Petr Vít, PhD.