

Oponentský posudek na diplomovou práci Anny Kynčlové „Revize komplexu *Synura petersenii* Korshikov (Synurophyceae, Heterokontophyta) na základě syntézy molekulárních a morfologických dat“

Autorka předložené diplomové práce se snaží pomocí několika různých metod podchytit druhovou diverzitu v rámci druhového komplexu *Synura petersenii*. Díky **dostatečnému množství dat a vhodně zvoleným metodám** studia druhovosti dospívá k **velice zajímavým výsledkům**, které ukazují že druhová diverzita byla dosud v rámci studované skupiny výrazně podceňována. O významu práce svědčí i fakt, že na základě dat, která byla během jejího řešení nasbírána, byl sepsán i odborný článek do impaktovaného časopisu. Práce dle mého názoru bohatě splňuje nejvýznamnější kritéria pro její posuzování. Přesto práce obsahuje několik nápadných nedostatků, zejména:

1. V práci bohužel zcela chybí dva obrázky na které se autorka v textu odkazuje. Jedná se o obr. 4 (fylogenetický strom – výsledek ML analýzy) a obr. 12 (měl ukazovat korelace znaků s osami PCA analýzy). Absenci těchto obrázků považuji za velmi nešťastnou, v obou případech se jedná o poměrně zajímavé údaje.
2. Autorka poskytuje v práci odkaz na internetovou adresu, kde má být k dispozici alignment sekvencí použitý v práci – jedná se však o alignment jiný, chudší o celkem 23 sekvencí – jde totiž, jak jsem s jistým zpožděním vydedukoval, o alignment použitý v příloženém odborném článku. Tak či onak, s alignmentem souvisí další poznámka: alignment obsahuje množství identických sekvencí – např. všechny sekvence spadající do větve 2 jsou v tomto alignmentu naprosto stejné, sekvence spadající do větve 5 se liší jedinou pozicí, přičemž jde jen o rozdíl „T“ versus „Y“ („Y“ = „C nebo T“) – rozdíl v tomto případě „neviditelný“ z hlediska programů rekonstruuujících fylogenetické stromy. Použití alignmentu s takovým složením není chybné, jen zbytečné. Poněkud se však posouvá interpretace výsledků: to, že shodné sekvence vytvoří dobře podpořenou větev, je totiž samozřejmé. K problému se ještě vrátím formou otázky.

V práci lze nalézt ještě několik dalších méně závažných chyb či prohřešků proti zvyklostem, jde např. o následující:

- na několika prvních stranách jsou citace uváděny ve tvaru autor – čárka – rok, jinde jsou uváděny bez čárky. Bylo by lepší způsob citování sjednotit.
- citace „Klebs 1893a“ (str. 2) a „Kristiansen 1975a“ (str. 5) budí dojem, že v práci budou citovány i další práce téhož autora z téhož roku – není tomu tak
- dvě práce téhož autora (Wee 1982 a 1997) nejsou v seznamu literatury uvedeny v chronologickém pořadí
- „tabulka X“ v textu na str. 7 má zjevně být odkaz na tabulku 2
- v části „materiál a metody“ bývá zvykem pro Bayesian Inference uvést hodnotu použitého „Burnin“
- hodnota bootstrapu (93) připisovaná větvi 5 patří větvi 8 (str. 9)
- v textu chybí odkaz na obrázek 5 a na tabulku 7
- na str. 30 nejsou latinská rodová a druhová jména psána kurzívou
- v příloženém článku je chybně „criptic“ místo „cryptic“ (str. 48)

Závěrečné hodnocení:

Přestože práce obsahuje několik nedostatků, jejichž významnou část by bylo dle mého názoru možné včas odstranit ještě jedním pozorným pročtením práce před odevzdáním, navrhuji práci hodnotit stupněm **VÝBORNĚ**, neboť vzhledem k množství dat, rozmanitosti použitých metod i závažnosti výsledků jde (dle mého názoru) o práci nadprůměrnou.

Na závěr bych autorce rád položil několik otázek:

1. V alignmentu, který mi byl k dispozici, je mnoho shodných sekvencí (např. S 5.1, S 5.2, S 5.3, S 14.2). Jsou získané ITS + 5,8S rDNA sekvence těchto kmenů skutečně identické, nebo jsou rozdíly přítomné jen v oblastech, které byly z alignmentu odstraněny? Není vhodnější analyzovat fylogeneticky jen ty sekvence, které se vzájemně liší? S touto otázkou souvisí i to, že mezi identickými sekvencemi není samozřejmě možné nalézt (hemi-)CBC.
2. Na str. 27 autorka uvádí: „všechny tři metody, použité pro analýzu většího počtu vzorků (ML, BI a BI s použitím partitioned analýzy), došly ke shodným výsledkům, což poukazuje na stabilitu alignmentu ITS sekvencí“. Ve skutečnosti není až tak překvapivé, že tyto metody dospěly ke shodnému výsledku – všechny využívají maximum likelihood jako kritérium pro posuzování stromu. K jakému výsledku dojde např. fylogenetická analýza využívající maximální parsimonii nebo distanční metody (např. neighbor joining či metoda využívající ML distance)?
3. Oddíl 4.3 diplomové práce, diskutující distribuci morfologických znaků na fylogenetickém stromě získaném analýzou molekulárních dat, obsahuje nevyslovený předpoklad, že správný obraz o fylogenezi nám poskytnou právě data molekulární, morfologická nikoli. Dle mého názoru jde o apriorní a možná neoprávněné podcenění morfologických dat, zejména v tomto případě, kdy je fylogeneze zkoumána s využitím jediné, poměrně krátké sekvence. Uvažuje autorka o využití dalšího molekulárního markeru, který mohl podpořit – nebo oslabit – výsledky založené na ITS + 5,8S rDNA? Nestálo by za to morfologická data vyjádřit formou matice, kterou by bylo možno fylogeneticky analyzovat – třeba i společně s molekulárními daty?
4. Autorce se podařilo identifikovat některé šupiny, jejichž obrázky byly publikovány v literatuře různými autory (např. Gavrilova et al. 2005), do nově popsáných druhů / větví. Bylo by možné některé takové kmény získat, osekvenovat a ověřit tak správnost jejich určení na základě morfologických dat?
5. V příloženém článku se autoři věnovali šesti větvím – ty byly popsány jako samostatné druhy. V diplomové práci jsou další dvě větve – 7 a 8. Chystá se také jejich popis coby samostatných druhů? Objevily se již ještě další samostatné větve v rámci studovaného komplexu? Chystá se autorka v jejich „lovu“ pokračovat?
6. Zbyde-li trocha času, rád bych poprosil autorku o stručné seznámení s životním cyklem *Synury* – zejména by mne zajímalo zda zahrnuje pohlavní procesy, jakým způsobem probíhají a jak často k sexu u *Synury* dochází.

Mgr. Martin Kostka, Ph.D.

v Českých Budějovicích 17. 5. 2009