

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Kateřiny Jůzové „Hostitelská specializace a diverzita řasníků rodu *Stylops* (Strepsiptera)“, předloženou k obhajobě na katedře zoologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze

Řád Strepsiptera (řasnokřídílí) obecně patří k nejméně známým skupinám hmyzu. Jeho zástupci ucházejí běžné pozornosti kvůli své malé velikosti a převažujícímu endoparazitickému způsobu života uvnitř těl jiných skupin hmyzu. Řadou entomologů byli řasníci až donedávna považováni za velmi vzácné organizmy. Systematické sbírky této skupiny ve většině muzeí prakticky neexistují. Ač jsou některé druhy řasníků v přírodě pravděpodobně dosti hojné, nálezy řady jiných se zdají být spíše dílem náhody, ke které v extrémních případech dochází i jednou za několik desítek let. I při dostatku materiálu je však studium řasníků neobyčejně složité kvůli jejich extrémnímu pohlavnímu dimorfismu a výrazně zjednodušené morfologii, která je adaptací na parazitický způsob života. Klasické metody hmyzí taxonomie, založené převážně na morfologických znacích, zde mají jen omezené použití, což se mimo jiné týká i studia kopulačních orgánů, které ve většině jiných skupin hmyzu bývá pro taxonometry důležitou pomůckou k odlišení kryptických druhů. Není proto divu, že jednou z mnoha dosud nejasných otázek týkajících se řádu Strepsiptera je zároveň jedna z těch nejzákladnějších, a to vymezení jednotlivých druhů řasníků a šře jejich hostitelské specializace.

Bc. Kateřina Jůzová se nezalekla obtížnosti tématu a ve své diplomové práci se zaměřila na vymezení druhů v rámci rodu *Stylops*, ve kterém je taxonomická situace obzvláště složitá kvůli přítomnosti velkého množství použitelných druhových jmen s nejasnou platností i diagnózou. Ke studiu tohoto rodu využila zřejmě jako první na světě molekulární znaky, analyzované fylogenetickými metodami.

V krátkém, jednostránkovém úvodu diplomové práce jsou předloženy její cíle. Jsou jasně formulované a svou náročností překračují obvyklá zadání diplomových prací – spíše se blíží nárokům kladeným na práce dizertační.

Na úvod navazuje poměrně stručný literární přehled (necelých 6 stran), charakterizující řád Strepsiptera, zejména jeho postavení v rámci systému hmyzu, morfologické a bionomické zvláštnosti a vztah k hostitelům, nechybí však ani obecnější pasáže věnované parazitismu a hostitelské specializaci, které zasazují téma diplomové práce do širšího kontextu. Kateřina Jůzová zde dokazuje, že má literaturu týkající se obecného rámce své práce dostatečně prostudovanou, a to včetně publikací historických i zcela aktuálních (v celé diplomové práci je celkem citováno okolo devadesáti publikací z rozmezí let 1839 až 2012). Informace z literatury dokáže kombinovat do smysluplného a více či méně logicky strukturovaného textu (některé informace se na různých místech textu zbytečně opakují – např. výčet řádů hostitelů řasníků, počet popsanych druhů, problémy s pohlavním dimorfismem vedoucí k poměrně častému popisu taxonů na základě jen jednoho pohlaví apod.).

V úvodním přehledu postrádám především detailnější kritické zhodnocení dosavadní druhové taxonomie rodu *Stylops* (na straně 6 je jen povšechně zmíněno několik prací zastávajících různě široké názory na vymezení jednotlivých druhů), což čtenáři znesnadňuje orientaci i na dalších stránkách, ve vlastních výsledcích diplomové práce a diskuzi. Proč autorka nezařadila např. výčet publikovaných, použitelných druhových jmen v rámci rodu, ideálně doplněný o odkazy na původní popisy, známé údaje o hostitelích a geografickém rozšíření a poznámky k možné synonymice či odlišnému pojetí jednotlivých taxonů u různých autorů? Ani na jiném místě diplomové práce se např. nelze dopátrat, kolik taxonů skupiny druhu bylo v rodu *Stylops* dosud popsáno nebo jaké má rod rozšíření (kosmopolitní?). V naprosto minimální verzi by se pak jistě hodil alespoň odkaz na světový elektronický katalog Strepsiptera od J. Kathirithamby volně dostupný na webových stránkách (<http://rameau.snv.jussieu.fr/cgi-bin/strepsiptera.pl?db=strepsiptera&lang=en&card=genus&id=47>). Stejně tak by si nějaký ten odstavec jistě zasloužil i hostitelský rod včel *Andrena*, rovněž s komplikovanou taxonomií a velkým množstvím popsáných druhů. Následující pasáže se např. opakovaně odvolávají na podrodovou klasifikaci rodu *Andrena*, v diplomové práci však schází být i jen odkaz na publikaci, z níž byla tato klasifikace převzata, natož aby byla nějakým způsobem tato extrémně diverzifikovaná skupina včel alespoň stručně představena a byl kriticky zhodnocen současný stav její systematiky.

Velkou předností diplomové práce je množství a pestrost zpracovaného materiálu. Celkem 202 jedinců rodu *Stylops* a 29 dalších jedinců čeledí Stylopidae a Xenidae použitých jako outgroup, vypreparovaných z více než 80 různých hostitelských druhů blanokřídlých (z toho více než 50 druhů rodu *Andrena*), ulovených (nejen) v různých zemích střední a jižní Evropy, Turecka, střední Asie, severní Afriky a Severní Ameriky, od kterých se podařilo pro práci izolovat sekvence DNA, představuje vzhledem k již zmíněné obtížné dostupnosti materiálu řasníků ve sbírkách i terénu unikátní datový soubor, který se dosud nikomu jinému shromáždit nepodařilo. Rovněž 30 odzkoušených primerových párů (z nichž byla část nově navržených speciálně pro tuto diplomovou práci) pro celkem devět mitochondriálních a jaderných genů svědčí o velkém nasazení a houževnatosti Kateřiny Jůzové v laboratoři, díky nimž se jí podařilo prozkoumat řadu slepých cest a nakonec úspěšně získat PCR produkty a sekvence od celkem tří genů (2 mitochondriálních, 1 jaderného), které použila pro fylogenetické analýzy. Základní údaje o všech analyzovaných vzorcích i primerech jsou přehledně shrnuty v několika tabulkách umístěných jako přílohy diplomové práce. Rozsah získaných dat sám o sobě bezpochyby umožňuje rekonstrukci fylogeneze v rámci rodu *Stylops*. Použitá metodika vlastních molekulárních a fylogenetických analýz je standardní, v diplomové práci přesně popsána a tudíž opakovatelná. Z tohoto pohledu práci nelze nic podstatného vytknout.

Diskutabilní je v rámci metod snad jen použití nekorigovaných párových distancí ze sekvencí mitochondriálního genu podjednotky I cytochromoxidázy c jako jednoho ze dvou hlavních kritérií pro vymezení druhu (viz str. 14 a dále str. 23 a další komentáře v kapitole Výsledky a Diskuse; tím druhým kritériem, byť to v diplomové práci není explicitně zmíněno, je zřejmě reciproční monofylie). Diplomová práce se v případě párových distancí odvolává

zejména na publikace Paula Heberta a jeho spolupracovníků (2002, 2004a,b), hlavní zastánce tzv. DNA-barcodingu, které však nejsou vědeckou veřejností přijímány jednoznačně, což diplomová práce nijak nereflektuje. Ač je v diplomové práci hypotetická hranice genetických vzdáleností mezi sesterskými druhy stanovena na 5 %, což je hodnota, která převyšuje relativní mezidruhové rozdíly známé ve většině jiných skupin živočichů, je to stále jen arbitrárně, předem stanovené číslo bez biologického významu, zde aplikované na nedostatečně taxonomicky známou skupinu, pro kterou alespoň zatím neexistuje možnost zpětně ověřit (např. na druhové klasifikaci získané na základě jiných kritérií či souborů dat), zda odpovídá realitě. Hranice mezi vnitrodruhovými a mezidruhovými rozdíly v molekulárních znacích u živočichů přitom často mohou splývat. Je rovněž známo, že p-distance mezi dobře definovanými biologickými druhy mohou nabývat značně různých hodnot i v rámci jedné a té samé taxonomické skupiny, přičemž mohou převyšovat i oněch 5 % aplikovaných v diplomové práci (viz např. diskuse v článcích Rubinoff, Cameron & Will 2006, *Journal of Heredity* 97(6): 581–594 a Meyer & Paulay 2005, *PLoS Biology* 3(12): e422). V tomto případě by zřejmě bylo vhodnější (ač jistě obtížnější) se alespoň v rámci možností pokusit aplikovat na řasníky jednu (či ještě lépe vícero) z teoreticky lépe propracovaných koncepcí druhu (např. fylogenetický, biologický, morfologický, sjednocený (=unified) koncept druhu apod.), ke kterým je k dispozici rozsáhlá literatura (např. de Queiroz 2007, *Systematic Biology* 56(6):879–886; Claridge, Davah & Wilson (eds.) 1997: *Species. The units of biodiversity*. Systematics Association Publications Special Volume Series 54. Chapman & Hall, London, 435 pp.) a/nebo se pokusit vymezit druhy empiricky, ale na základě lépe definovaných operačních kritérií (viz např. Sites & Marshall 2004, *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35:199–227). Výsledný počet vymezených druhů by se podle použité metody každopádně mohl lišit od čísla, ke kterému nakonec dospěla diplomová práce (tj. 27 až 33).

Jádrem výsledků diplomové práce jsou čtyři fylogenetické stromy (sestrojené pro každý ze sekvenovaných genů zvlášť a jejich konkatenát), které jsou komentovány na celkem 8 stranách textu ve smyslu cílů diplomové práce. Výsledky obsahují množství původních a vědecky zajímavých informací – především se jedná o první podrobnou fylogenetickou hypotézu pro rod *Stylops*, sestrojenou na základě reprezentativního souboru dat, potvrzení monofylie rodu a dále zjištění, že řada jeho vnitřních kládů je evidentně specializována na hostitele v rámci jednotlivých podrodů včel rodu *Andrena*, což otevírá zajímavou otázku o možné koevoluci těchto dvou taxonů (která však v diplomové práci zřejmě kvůli nedostatečným znalostem fylogeneze rodu *Andrena* testována není). Již zmíněné výhrady mám ke způsobu neformálního rozdělení rodu *Stylops* na hypotetické druhy, které by si snad zasloužilo lepší zdůvodnění, i ke způsobu jeho prezentace. Vzhledem k absenci historického nomenklatoricko-taxonomického přehledu rodu *Stylops* v úvodu či na jiném místě diplomové práce, působí přiřazení druhových jmen k jednotlivým analyzovaným vzorkům v Příloze 5 tak trochu jako blesk z čistého nebe a je pochopitelné snad jen pro několik málo expertů v taxonomii řádu Strepsiptera na světě, kteří mají důkladný přehled o všech dosavadních taxonomických publikacích týkajících se tohoto rodu. Nově navrhovaná druhová klasifikace je ze samotné Přílohy 5 i textu diplomové práce navíc jen obtížně přehledná – mnohem přehlednější by bylo vymezit druhy řasníků přímo do obrázků fylogenetických stromů nebo

alespoň do jednoho z nich (znázorňujícího fylogenezi na základě konkatenátu všech tří analyzovaných genů).

Většina textu diskuse (celkem 7 stran) výsledky dále rozvíjí a ukazuje na další zajímavé směry studia. Podkapitola 5.2.2 Cesta přes oceán o disperzích řasníků z Evropy do Severní Ameriky či naopak je ale pravděpodobně nepodloženou spekulací. Současné geografické rozšíření řasníků by kromě disperze mohlo být snad vysvětlitelné i vikariancí či např. vymřením jednoho původně široce rozšířeného druhu či jeho předka v části jeho areálu (tj. na jednom ze současných kontinentů). K testování tohoto typu hypotéz by se hodily metody historické biogeografie, které však vyžadují mít v analýze zastoupené pokud možno všechny existující druhy v rámci studovaného taxonu a jsou tak smysluplně proveditelné většinou jen pro relativně dobře známé skupiny organismů. Diskuse jako celek by si zasloužila poněkud hojněji vztáhnout k literatuře, což by také zvýšilo její návaznost na literární přehled v úvodu diplomové práce.

Po formální stránce diplomová práce obsahuje vzhledem ke svému rozsahu poměrně mnoho malých nedostatků: stylisticky neobratných formulací, drobných pravopisných chyb (z opakuje se např. monoflie, synonymizace, Česká Republika) a překlepů; orientaci v seznamu literatury komplikuje nedůsledné abecední a chronologické řazení jednotlivých prací a několik chyb v letopočtech publikací v rámci literárních odkazů v textu, celkem pět prací citovaných v textu pak v seznamu literatury chybí (Kathirithamby 1984, Niehuis et al. 2012, Pierce 1911, Rambaut 2009, Westwood 1839). Odkazy na Obrázky 6–9 v textu kapitoly Výsledky jsou chybné, zřejmě kvůli pozdějšímu přečíslování obrázků v celé práci.

I přes zmíněné výhrady a drobné formální nedostatky předložené dílo Kateřiny Jůzové podle mého názoru jednoznačně splňuje nároky kladené na diplomové práce na katedře zoologie. Obsahuje velké množství původních a vědecky cenných dat, u kterých věřím, že se v blízké době dočkají publikace v některém z mezinárodně respektovaných odborných periodik. Kateřina Jůzová kromě zpracování početného a unikátního materiálu a důkladného zvládnutí technik molekulárních a fylogenetických analýz při řešení náročného tématu prokázala svou schopnost vědecké práce. Její diplomovou práci proto velmi rád doporučuji k obhajobě.

V Brně, 12. září 2012

Mgr. Igor Malenovský, Ph.D.

Entomologické oddělení, Moravské zemské muzeum

Dotazy:

1. Jaké je celkové geografické rozšíření rodu *Stylops* a *Andrena* na Zemi? Kolik taxonů skupiny druhu bylo v rámci obou rodů dosud formálně popsáno a v kterých biogeografických oblastech? Jsou známy fosilie stylopizovaných včel rodu *Andrena* či samců rodu *Stylops*?
2. Existují v rámci rodu *Andrena* některé podrody či druhové skupiny včel, které by zjevně vůbec nebyly parazitovány řasníky?
3. Fylogenetický strom na Obrázku 2 patrně nepředstavuje konsensus, nýbrž výsledek *total evidence* analýzy sekvencí všech tří studovaných genů – je tomu opravdu tak?
4. Je možné alespoň pro některé z hypotetických druhů rodu *Stylops* vymezených v diplomové práci najít diagnostické morfologické znaky, ať už se jedná o morfologii larev prvního instaru nebo dospělých samic/samců?
5. Napadá autorku diplomové práce nějaký způsob, jak u řasníků ověřit reprodukční izolovanost jednotlivých hypotetických druhů nezávisle na taxonomické příslušnosti hostitele? V jakém stádiu je např. výzkum feromonů v řádu Strepsiptera?
6. Má autorka diplomové práce či její kolegové v úmyslu navázat na provedenou fylogenetickou analýzu taxonomickou revizí rodu *Stylops*, která by udělala pořádek v synonymice a formálně popsala dosud nepojmenované druhy podle pravidel zoologické nomenklatury?