

## **Oponentský posudek diplomové práce Bc. Vojtěcha Scharfena „Diverzita rodu *Frustulia* v severní Evropě“**

Předložená diplomová práce se zabývá rodem *Frustulia* (Bacillariophyceae) v severní Evropě. Druhovou bohatost tohoto rodu Bc. Vojtěch Scharfen studoval prostřednictvím několika různých metodologických přístupů. Pomocí molekulárních metod zjišťoval fylogenetickou příbuznost velkého počtu zejména vlastních izolovaných klonálních populací a následně se pokusil nalezené linie zpětně přiřadit k již popsaným druhům na základě morfologie jejich křemičitých schránek.

Tato práce je psána hezkým jazykem, obsahuje všechny části, které jsou součástí vědeckých publikací, a navíc je doplněna o rozsáhlé informativní přílohy, zejména tabulky s primárními daty. Bohužel je však na práci patrné, že byla psána za spěchu, což prozrazuje opravdu velký počet překlepů, drobných formálních chyb, nejednotné užívání formátu a zkratk, chybné psaní jednotek a dalších drobností.

Z vědeckého hlediska je však práce velmi kvalitní. Oceňuji především kombinaci několika přístupů ke studiu tohoto rodu a rozsáhlé množství sběru vlastních dat. Věřím a doufám, že minimálně část výsledků této práce bude publikována v recenzovaném vědeckém časopise.

### *Komentáře k jednotlivým částem práce:*

Abstrakt bohužel není příliš zdařile napsaný. Sice správně obsahuje většinu důležitých informací o celé studii, nicméně by bylo vhodné přehodnotit formulace velké části vět, odstranit všechny překlepy a též reference (v české verzi), které do abstraktů obecně nepatří. Je to vizitka celé práce, proto doporučuji do budoucna dát si na této části více záležit.

Úvod je však napsaný velmi pěkně. Čtenáře srozumitelně uvádí do problematiky pojetí druhu u rozsivek, nedostatečné znalosti biogeografie této skupiny, dále seznamuje zevrubně se studovaným rodem *Frustulia* a jasně stanovuje cíle diplomové práce.

V sekci Materiál a metody je popsán sběr vzorků, postup izolace a kultivace kmenů, získání genetických sekvencí a jejich zpracování a postup při získávání a zpracování morfologických a morfometrických dat. Množství použitých metod je pro diplomovou práci úctyhodné. Z této části je též patrné, že autor je v popsaných metodách zblhlý. Bohužel se však tento fakt mírně negativně projevil na množství uvedených detailů v metodických postupech, které by mohly činit potíže člověku méně zblhlému v práci s rozsivkami při replikaci popsaných postupů. Kromě toho by bylo užitečné podat více informací o lokalitě odběru vzorku, než jsou jen uvedené GPS souřadnice, nadmořská výška, pH a konduktivita. Informace, jako je např. typ biotopu, by totiž mohla být užitečná při vyhodnocování výsledků, kdy se nepodařilo na základě morfologie jednoznačně odlišit linie nalezené fylogenetickou analýzou.

Sekce Výsledky a oddíl Diskuze přináší velké množství zajímavých informací. Bohužel se však obě sekce velmi prolínají a člověk se tak trochu ztrácí, které výsledky byly získány přímo autorem a které jsou převzaty a citovány z již publikovaných zdrojů. Ve výsledcích by bylo žádoucí zahrnout výhradně výsledky autora, a srovnávání s jinými pracemi si schovat do sekce Diskuze a naopak. Dále se přimlouvám, aby se autor do budoucna naučil lepšímu popisování tabulek a obrázků, aby bylo možné jim plně porozumět bez složitěho dohledávání vysvětlivek v textu práce. Na druhou stranu oceňuji informativní diskuzi a shrnující kapitolku s názvem

„Nalezené druhy“, která obsahuje morfologické popisy, ekologické poznámky a obrazové tabule.

Seznam použité literatury zahrnuje velké množství publikací včetně tradiční i moderní literatury, což svědčí o autorově dostatečné znalosti současného stavu studované problematiky. Nicméně doporučuji autorovi změnit vzor pro psaní referencí, poněvadž způsob citací s více než dvěma autory je v prezentované formě nedostačující (zvláště v případě dvou rozdílných, ale neodlišených citací Souffreau et al. 2013). Kromě toho by neškodila větší pečlivost, jelikož více než 10 referencí citovaných v textu v tomto seznamu úplně chybí.

*Dotazy:*

Z popisu není úplně patrné, jak se zacházelo se vzorky bezprostředně po jejich odběru. Za jakých podmínek a jak dlouho probíhal transport? Byly vzorky skutečně skladovány a přepravovány „v lednici bez přídatného osvětlení za teploty 17°C“ do doby než proběhla izolace? Kdo vlastně odebíral vzorky?

Bylo pořízeno úctyhodných několik stovek sekvencí různých kmenů patřící do rodu *Frustulia*. Bude (či již byla) alespoň část těchto sekvencí uložena do databáze GenBank?

Z jakého důvodu byla použita při tvorbě fylogenetického stromu jediná outgroupová skupina (tj. sekvence druhu *Amphipleura pellucida*), ačkoliv sám autor v diskuzi navrhuje, že lepších výsledků by mohlo být dosaženo zařazením více outgroupových skupin. Jaká jiná sekvence by mohla být použita?

Z jakého důvodu bylo měřeno pouze 10 či 20 buněk z jednoho klonu/vzorku pro morfometrickou analýzu a ne více? Je pochopitelné, že v některých případech není k dispozici dostatek materiálu, nicméně se domnívám, že pro morfologické odlišení takto velmi podobných druhů/linií je 10 proměřených buněk opravdu málo. Není proto překvapením, že zvolenou metodou nebylo možné detekovat morfologickou odlišnost nalezených linií.

Proč byly naměřené hodnoty strií ze středové oblasti valvy a z konců valv průměrovány? Domnívám se, že takto získaná hodnota může být zavádějící a navíc je obtížně porovnatelná s literaturou. Vhodnější by bylo získat průměrnou hodnotu z měření strií v centrální části valvy a zvláště získat průměrnou hodnotu z proměření koncových částí valv. Takto získaná dvě čísla by mohla ukázat odlišnost mezi liniemi s větší pravděpodobností než průměrování všech čísel dohromady.

V práci se projednává, že identifikace druhů na základě morfologie byla provedena nezávisle třemi osobami.

- Zajímalo by mě, jak bylo postupováno při výběru osob provádějící identifikaci druhů a jak probíhalo vyhodnocování výsledků tohoto pokusu. Jakým způsobem bylo vlastně rozhodnuto, která osoba měla pravdu a kdo naopak určil taxon špatně? Je autor spokojen s počtem osob provádějící experiment?
- Jak by se situace problematičnosti určení druhů změnila, kdyby byla srovnávána procentuální úspěšnost určení (ne absolutní čísla bez vztahu k četnosti pozorování)?

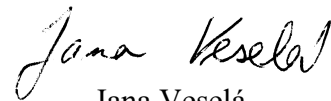
V závěru jsou stručně shrnuty výsledky práce. Nicméně si nejsem jistá, zda autor zodpověděl všechny otázky stanovené v úvodu. Může autor v krátkosti okomentovat, zda a jak byly splněny první dva cíle práce?

- Jaká je tedy druhová diverzita rodu *Frustulia* v severní Evropě? Byla vskutku studována druhová diverzita?
- Byla zjištěna pseudokryptická diverzita u dalších tradičně vymezených druhů podobně, jako je tomu u komplexu druhů *F. crassinervia-saxonica*?

I přes výše uvedené výhrady předložená práce přináší velmi cenné informace o rodu *Frustulia* nejen ze severní Evropy. Autor se při jejím vypracování seznámil s tradičními i moderními metodologickými postupy, které si osvojil a které ho kvalifikují pro budoucí práci v dynamicky se vyvíjejícím oboru studia rozsivek.

Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnocení stupněm velmi dobře.

V Českých Budějovicích 29. srpna 2014

  
Jana Veselá