

Oponentský posudek na diplomovou práci

Dora Čertnerová: Rekonstrukce morfologické evoluce a fylogenetických vztahů šupinatých chrysomonád rodu *Mallomonas*

Náplní diplomové práce je rekonstrukce fylogenetických vztahů 39 druhů rodu *Mallomonas*, který se vyznačuje velkou variabilitou křemičitých šupin. Vedle analýzy tří molekulárních markerů ze dvou nezávislých regionů DNA (rDNA a cpDNA) je rekonstruována také evoluce morfologických znaků, které v současnosti slouží k determinaci druhů. Cílem této práce bylo ukázat, do jaké míry je současný „morfologický“ druhový koncept rodu podpořen molekulárními daty a zda-li genetická diferenciací odráží i diferenciaci morfologickou. A pokud se morfologická diferenciací liší od genetické, vysvětlit proč a popsat okolnosti a charakteristiky vývoje současných tvarů křemičitých šupin. V rámci práce bylo studováno ca 20% všech známých druhů rodu, přičemž vlastní sběry autorky představují 6 ze 39 analyzovaných druhů. Nicméně je zřejmé, že získávání materiálu a zejména jeho kultivace potřebná pro získání dostatečného množství DNA pro molekulární analýzy, je jedním z nejproblematictějších částí studia této skupiny, jak je dobře popsáno v úvodu práce i její metodické části. Z metodického pohledu hodnotím práci velmi kladně, neboť propojuje dva hlavní proudy systematických studií, tj. molekulární a morfologickou, přičemž v rámci každého odvětví používá vícero metod a to jak klasických, tak moderních. V rámci molekulární části práce bych vyzdvihla pokus o rekonstrukci kalibrované fylogeneze, kde autorka vhodně využívá existenci fosilních záznamů několika zástupců *Chrysophyceae*. V morfologické části je to pak propojení klasické morfometriky s moderními aplikacemi jako jsou rekonstrukce evoluce a ancestrálních stavů znaků či modelování charakteru evoluce znaků. Vlastní provedení všech analýz považuji za velmi pečlivé a správné, s několika drobnými připomínkami, viz kladené otázky. Výsledky jsou prezentovány dostatečně a přehledně, přičemž kvalita prezentovaných grafů je na vysoké úrovni. Diskuze výsledků je také dostatečná, i když např. v molekulární části týkající se kalibrované fylogeneze bych očekávala rozsáhlejší rozbor příčin značného rozdílu v časových rozmezích diverzifikací jednotlivých linií, který byl pozorován v této studii a v několika recentních studiích s podobným zaměřením. V morfologické části pak rozsáhlejší debatu ohledně možných biotických a abiotických faktorů, které se mohly podílet na změnách tvarů křemičitých struktur. Celkově však byly, dle mého názoru, cíle práce splněny velmi uspokojivě.

Otázky:

1) V rámci práce byl (z pochopitelných důvodů) analyzován pouze zlomek známých druhů rodu *Mallomonas*. Je možné nějak nastínit/osvětlit, jak rozsáhlou morfologickou variabilitu představuje zbylých ca 150 druhů v porovnání s rozsahem morfologické variability studované v této práci?

2) Co může být příčinou velkých konfidenčních intervalů odhadovaných věků v rámci rekonstruované kalibrované fylogeneze? Jak si vysvětluje autorka poměrně významné rozdíly v odhadovaných datech diverzifikací jednotlivých linií v rámci rodu *Mallomonas* mezi vlastními analýzami a analýzami autorů citovaných v úvodu a diskuzi, jejichž data i fosilní záznamy použité pro kalibraci se do značné míry překrývají s daty analyzovanými v této práci? Existují nějaké historické události, které by mohly sloužit jako kontrola věrohodnosti odhadů alespoň některých časových údajů (např. v úvodu zmiňované výkyvy koncentrací křemíku či výkyvy teplot během ca posledních 300-400 milionu let)?

3) Proč nebylo v morfologické části analyzováno více jedinců na druh, nebo alespoň více křemičitých šupin z jednoho jedince daného druhu? Nevedla by analýza většího množství vzorků ke spolehlivějším výsledkům a k prokázání stability a věrohodnosti morfologických znaků jako dobrých taxonomických charakteristik v případě klastrování všech zástupců náležících ke stejnému druhu?

4) Pro některé zástupce *Mallomonas*, byla v minulosti pro popis tvaru křemičitých struktur a jejich tvarových změn využita také geometrická morfometrika. Nebylo by možné tuto metodu použít i na mezidruhové úrovni v rámci tohoto rodu, rekonstruovat ancestrální tvary jednotlivých druhů a porovnat je s výsledky rekonstrukcí ancestrálních hodnot znaků odvozených na základě dat z klasické morfometrie? Jaké informace by takové porovnání mohlo poskytnout?

5) V úvodu práce jsou uvedeny některé možné funkce jednotlivých morfologických útvarů na křemičitých šupinách, v morfologických analýzách jsou pak rekonstruovány průběh a charakter evolučních změn pro tyto jednotlivé útvary. Je možné, že některé analyzované znaky se vyvíjely ve funkční vazbě alespoň v rámci některých linií? Extrémním příkladem je zřejmě téměř shodný vývoj znaků „přehnutý posteriorní okraj dosahující až k V-žeburu“ a „přítomnost síťky na posteriorním okraji“, jsou i nějaké jiné příklady, u kterých by souběžná evoluce některých znaků mohla např. reflektovat vývoj některé evoluční linie (např. některé z monofyletických sekcí) a mohla by tak vypovídat o případných selekčních tlacích působících na danou skupinu?

6) Pro znaky, u jejichž evoluce nebyla prokázána přímá souvislost s molekulární fylogenezí skupiny, bylo naznačeno, že na jejich vývoji se pravděpodobně podílel, kromě alternativy neutrální evoluce, přirozený výběr v reakci na tehdejší abiotické a biotické podmínky prostředí. Není možné, že u těchto znaků by mohl být vliv těchto podmínek na jejich evoluci daleko lépe pozorovatelný a bylo by možné sledovat reakce změn některých struktur v návaznosti na ekologii daných druhů?

7) S jakými biotickými nebo abiotickými změnami by mohl teoreticky souviset vývoj znaků vykazující známky adaptivní radiace?

Připomínky a drobné komentáře:

1) Na str. 22 v tabulce shrnující složení Master mixu pro PCR reakce by mělo být vždy uvedeno, v jakých koncentracích byly uvedené chemikálie použity.

2) Na str. 25 v metodice rekonstrukce časově kalibrovaného stromu je uvedeno, že „vstupní soubor byl redukován tak, aby obsahoval od každého taxonu pouze jednoho zástupce“. Proč byl zvolen tento přístup a jak byly umístěny kalibrační body pro druhy *M. asmundiae* či *M. insignis*, kdy fosilní záznam nemohl být zjevně umístěn do žádného nodu, tj. společného předka skupiny (podobně jako je to použito u Siver et al., 2013b)?

Na str. 25 a 26 mám pocit, že došlo k dvěma drobným metodickým překlepům. Pro konstrukci konsenzuálních stromů se nepoužívá program LogCombiner, ale TreeAnnotator a zvolená „burn-in“ perioda se neodstraňuje „z konsenzuálního chronogramu“, ale před výpočtem konsenzuálního chronogramu (nebo jiného fylogenetického stromu).

V tabulce 4 na str. 26 pak chybí vysvětlení zkratk pro nastavení apriorních pravděpodobností.

3) Nadpis kapitoly 3.5.3 je „Výpočet statistické podpory BI fylogenetických stromů“, nicméně vlastní kapitola pojednává o výpočtu stromů metodami maximální parsimonie a maximum likelihood, nikoli pomocí bayesovské analýzy (BI).

4) Na obr. 2 je prezentován fylogenetický strom na základě dat z konkatenovaných úseků nrDNA a cpDNA. Některé vnitřní větve mají nízkou podporu, i když jiné větve směrem k bázi stromu i k distálnějším větvím mají statistické podpory vysoké. Je možné, že by toto pattern bylo způsobeno nedostatkem fylogeneticky informativních míst v jednotlivých sekvenovaných regionech nebo je příčinou nesoulad mezi nrDNA a cpDNA fylogenezí? Byly rekonstruovány fylogenetické stromy na základě nrDNA a cpDNA také nezávisle, nebo pouze jako konkatenovaný dataset? Byla testována kongruence jednotlivých datasetů? Co by mohlo být případně příčinou inkongruence jednotlivých fylogenezí v dané skupině?

Shrnutí a závěr:

Diplovová práce se zabývá skupinou, jejíž evoluce byla bez pochyby ovlivněna mnoha nejrůznějšími biotickými i abiotickými faktory a jejíž studium je navíc komplikováno obtížností sběru studijního materiálu. I přes tyto překážky práce přináší velmi kvalitní analýzy odkrývající evoluci mnoha důležitých morfologických znaků, které jsou vhodně interpretovány ve světle molekulárních evolučních vztahů druhů rodu *Mallomonas*. Tato práce je také pravděpodobně jednou z prvních studií v rámci *Chrysophyceae*, která kromě klasického popisu morfologické variability popisuje/modeluje i vývojové trendy jednotlivých morfologických znaků, což může přispět k osvětlení změn celých komplexních tvarů křemičitých struktur v rámci evoluce rodu. Vzhledem ke kvalitě analýz I množství zpracovaných dat by měla být práce prezentována širší vědecké obci formou publikace v odborném časopise.

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě a navrhuji ohodnotit známkou výborně (1).

V Innsbrucku, 9.9.2015

Eliška Záveská