

## Posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Soňi Lukešové **Diverzita prasinofytních řas příbuzných plastidu euglen**

Předkládaná magisterská práce se na základě detailní analýzy environmentálních sekvencí a fylogenomické analýzy plastidů pokouší co nejlépe nalézt nejbližšího možného dárce sekundárního plastidu euglen/krásnooček. Na začátek musím autorce/školiteli poděkovat. Oponenturu jsem tentokrát nebral za trest. Čtení práce mě bavilo, i když to tento semestr byla už má čtvrtá "diplomka". Z tohoto důvodu bych si s dovolením odpustil zbytek „omáčky na úvod“, které jsem si minulý týden užil dost, a přešel bych rovnou k věci.

Práce má standardní členění a po jazykové stránce vyniká. Autorce se podařilo skloubit vědeckou přesnost a úspornost se čtivostí. Práce má poměrně široký a pestrý metodický záběr, je vidět, že se toho musela hodně zvládnout a odvedla velké kvantum práce. Metodika mi navíc přišla vhodně zvolená a odpovídající vytyčeným cílům. V některých případech by ideálně mohla být autorka důkladnější (fylogenetická metodika a datování), ale ať si taky nechá něco na PhD. Oceňuji, že u složitějších metod uvedla i kolegy, kteří ji se zpracováním dat pomáhali. Výsledky jsou stručné a kvalitně graficky prezentovány, oproti tomu Diskuze poměrně obsáhlá a detailní, přesně jak by to mělo být. Autorka vhodně používá dostupnou literaturu k potvrzení vlastních závěrů a výsledky staví do kontextu již publikovaných prací. Vše je pak srozumitelně shrnuto v Závěru. Zásadnějších připomínek nemám, níže následují drobnosti. Zvýrazněné jsou ty, na které by mohla autorka odpovědět při obhajobě.

Strana 8. Možná by neškodilo zmínit případy možných právě probíhajících endosymbióz, např. *Hatena*.

9. „sesterská kinetoplastea“ ... co diplomemy a Symbiontida?

**11. “a v případě euglenofyt dokonce i jádro zaniklo” Věta naznačuje, že jádro primárního endosymbionta v případě sekundární endosymbiózy u euglen výjimečně chybí, ale že jinak je běžně zachováno? Je to skutečně tak, jak je takové jádro označováno a u kterých skupin sekundárních řas ho můžeme najít?**

**11. „Oproti jiným sekundárním chloroplastům, které jsou obklopené čtyřmi membránami, obalují ty euglenofytní pouze tři membrány.“ Z formulace vyplývá, že přítomnost tří plastidových membrán je jedinečným znakem plastidu euglenofyt. To však není pravda. Které další sekundární plastidy mají tři membrány?**

12. - 14. Literární přehled je důkladný a z hlediska zaměření možná až příliš detailní. Nejedná se o taxonomickou studii.

18. Cíle práce doporučují přeformulovat, takhle to vypadá, že cesta je cíl :-).

**21. genové klastry – Jaká je přibližná délka jednotlivých klastrů, respektive očekávaná velikost PCR produktů, byly amplifikovány najednou?**

**25. Je plastidový genom *Pterosperma cristatum* cirkulární? Jde mi o autorčin názor, možná už má k dispozici další data, než jsou prezentována v práci.**

27. „úroveň similarity“ - nevhodná formulace, ORF se hledá na základě podobnosti?

**28 a 34. Byla data z chloroplastových klastrů analyzována jako nt nebo aa? Z textu vyplývá, že nt, přičemž pohled na výsledky na str. 34 ukazuje značnou divergenci a tedy by stálo za to zkusit i aminokyselinový mód.**

**29. Všechny TARA V9 barkódy by se měly navzájem překrývat, jinak by neprošly počáteční kontrolou kvality. Proč byly sekvence analyzovány nezávisle na sobě, u 76/79 sekvencí by přece neměl být problém je zalignovat/analyzovat najednou.**

**31. datování – Proč byl použit jenom BEAST? Phylobayes nabízí další typy „evolučních hodin“ a BEAST analýzu vhodně doplňuje i v jiných aspektech. Byla stanovena nějaká minimální hodnota efektivní velikosti vzorku dohadovaných parametrů při analýze?**

34. Genové klastry - chybí informace o velikosti datasetů.

35. Nedostatečné zdůvodnění přítomnosti 18S stromu euglen - diplomka se zabývá diverzitou prasinofyt.

**36. Jednotlivé TARA barkódy představují unikátní sekvence, nebo reprezentanty jednotlivých klastrů/swarms použitých v de Vargas et al. (2015)? Pokud jde o jednotlivé sekvence, byly nějak filtrovány na základě podobnosti?**

**39. Mapa odběrových míst vzorků pocházejících z expedice Tara Oceans je poměrně chudá oproti nabídce publikované v de Vargas et al. (2015). Jedná se o všechny lokality s výskytem sekvencí relevantních skupin, nebo o výběr autorky?**

**53. Máte už vytipovaný nějaký vhodný znak pro případnou FACS?**

56. Fylogenomický dataset, ale i plastidové klastry by stálo za to analyzovat CAT modelem v programu Phylobayes a taky pomocí modelu Covarion. U klastrů kombinací CAT40 a LG(aa)/GTR(nt), u fylogenomického stromu CAT+LG. Uznávám, že to na výsledek bude nejspíš mít malý vliv, ale za pokus to stojí všude, kde se vyskytují klády s výrazně odlišnou rychlostí evoluce.

**58. Závěr č. 3 – autorka naznačuje, že také 18S fylogeneze potvrdila příbuzenské vztahy mezi Pyramimonadales a Euglenophyceae, mohla by vysvětlit jak? Na jaderné úrovni se přece jedná o naprosto nepřibuzné linie.**

Z výše uvedeného je doufám patrné, že i přes drobné nejasnosti považuji práci za velmi kvalitní, bez problémů obhájitelnou a hodnotím ji stupněm **výborně**.

V Českých Budějovicích 26. května 2016

Aleš Horák  
BC AVČR, „Parazitologická skupina“