

## Posudek oponenta na doktorskou disertaci RNDr. Ivana Fialy: *Fylogenetické vztahy vybraných druhů a rodů myxosporeí*

Během své vědecké a pedagogické kariéry jsem byl nucen vypracovat (na můj vkus) značný počet různých posudků. Jedná-li se o posudek na disertační práci, obvykle mi její několikeré přečtení a zhodnocení zabere nejméně týden. Vzhledem k tomu, jak důležitý mezník v profesním životě budoucího vědce příprava disertační práce představuje a především s vědomým kolik času a úsilí její přípravě disertant věnuje, připadá mi takováto časová investice z mé strany opodstatněná. V případě disertační práce RNDr. Ivana Fialy jsem se však rozhodl věnovat přípravě oponentského posudku podstatně méně času a podstatně méně úsilí. Myslím, že za chvíli nebude těžké si domyslit důvod, který mne k tomuto rozhodnutí vedl.

Práce se skládá z čtyřstránkového úvodu, čtyřstránkového Shrnutí výsledků, pěti publikací a jednoho posteru a seznamu literatury čítajícího 43 položek. Čtyři publikace byly uveřejněny v tuzemském časopise *Folia Parasitologica*, jedna vyjde či již vyšla v zahraničním časopise *International Journal for Parasitology* (I.F. 3.35). Na třech publikacích ve *Folia Parasitologica* je disertant posledním, tj. ve dvou případech druhým, autorem, na poslední publikaci ve *Folia Parasitologica* a na posteru je prvním autorem a na práci v *Int. J. Parasitol.* je dokonce jediným autorem.

V práci jsem neobjevil žádné věcné chyby. Po formální stránce mě však vadilo špatně čitelné písmo na zmenšené kopii posteru a dále některé stylistické neobratnosti v úvodních dvou částech práce (např. „transkript SSU rRNA genu je nedílnou součástí malé ribosomální podjednotky“; „Kromě počtu chlupů a pólových váčků jsou jako další důležité morfologické znaky spory považovány rozměry, tvar nebo charakter povrchu spory.“ „Mořský či sladkovodní původ parazita je, jak se prozatím jeví, významným hlediskem v evoluci myxosporeí.“; „Lokalizace v hostiteli se jeví být důležitým hlediskem ve fylogenezi myxosporeí.“; „Důvodem pro použití tohoto úseku DNA je jeho charakter (viz úvod) a také skutečnost, že je dosud prakticky jediným používaným markerem pro molekulární taxonomii myxosporeí.“)

V některých případech vyústily zmíněné stylistické neobratnosti až do věcných nepřesností (např. „Uskupení druhů v hlavních větvích je zřejmě ovlivněno jejich lokalizací v hostiteli.“ není to spíše obrácené? „Stejně tak nejsou monofyletické rody *Myxidium* a *Sphaerospora* a rovněž druhy rodu *Cloromyxum*.“ – monofyletické druhy?)

Neznám situaci na Biologické fakultě Jihočeské University ale věřím, že disertační práce splňuje všechny formální náležitosti a podmínky kladené zde na tento typ prací. Proto doporučuji, aby se po úspěšné obhajobě stala podkladem k udělení titulu PhD.

K disertantovi mám následující otázku: Myslíte, že ve své současné podobě umožňuje disertační práce posoudit vaši vědeckou kompetenci?

P.S. Jestli mne Web of Science neklame, disertant je v posledních 5 letech spoluautorem nejméně 15 prací. To byl rovněž důvod, proč v celku s čistým svědomím doporučuji, aby mu byl udělen titul PhD. Můj dojem z předložené práce však zůstává i nadále více než rozpačitý.

V Praze 20.9.2006

Doc. RNDr. Jaroslav Flegr, CSc.

## Fylogenetické vztahy vybraných druhů a rodů myxosporeí

### posudek oponenta

Oponenti doktorských disertací se jako druh blíží oprávněné extinkci, protože jejich činnost ztrácí smysl. Od okamžiku, kdy se disertacemi staly spojené separáty publikovaných či k publikaci přijatých článků, nezbyvá než sdělit napjatému uchazeči a komisi, že články prošly náročným recenzním řízením, že recenzenti věci jistě rozumí líp než oponent, a i kdyby ne, stejně se s tím už nedá nic dělat – to zásadní, totiž důkaz své schopnosti přežít ve světě mezinárodní vědy, uchazeč prokázal. Jediné, co zbývá, je podrobná analýza několikostránkového česky psaného přehledu výsledků, tedy opusu, který vznikl pouze za tím účelem, aby mohl být oponován.

Práci Ivana Fialy zpovzdálí sleduji už léta, přinejmenším od doby, kdy se jasně dokázalo, že Myxozoa jsou opravdu Metazoa, nemluvě o další fázi mého zájmu o Myxozoa, který následoval po senzačním znovuobjevení buddenbrockie. Nijak nepochybuji, že jde o uchazeče velmi pracovitého a schopného, o oprávněnosti udělení vědecké hodnosti PhD nemám žádné pochybnosti. Následující poznámky či dotazy se týkají jak česky psaných kapitol disertační práce (na nichž je jejich účelovost dosti patrná), tak i publikovaných článků.

1. Tvrzení, že vývojový cyklus myxosporeí zahrnuje fázi v „bezobratlém hostiteli“, je nejen fylogeneticky nesmyslné (žádní „bezobratlí“ nejsou), ale především to zatemňuje vcelku velmi zajímavý fakt, že Myxosporea, *pokud vím*, parazitují pouze v kroužkovcích (Annelida) a sumýšovcích (Sipunculida), což jsou skupiny blízce příbuzné (pokud sumýšovci nepatří přímo mezi canalipalpatní kroužkovce). Myxozoa by se pak dělila na větev mechovčí (Malacosporea) a větev kroužkovčí (Myxosporea), což by mohlo mít dalekosáhlé evoluční implikace. Je tomu opravdu tak?

2. Zajímavý údaj, že Myxosporea parazitují také na parybách, se ztrácí v kapitole o fylogenezi rodu *Chloromyxum*, zatímco marginální zmínky o parazitaci suchozemských obratlovců jsou zdůrazněny už na první stránce. Pro jistotu bych rád informoval uchazeče, že parejnek elektrický není divná ryba, divná ryba je člověk; pokud se parybí paraziti objeví na relativně bazální pozici (*Chloromyxum leydigii*), jde o věc velmi pozoruhodnou, byť zdá se víceméně nepovšimnutou.

3. Je zcela nepochopitelné, proč většina prací (s výjimkou článku z *Folia Parasitol.* 2002, ale včetně zásadního článku z *Int. J. Parasitol.* 2006) neobsahuje sekvence aktinosporeových stadií. Z hlediska molekulární fylogeneze je rozdělení podle vývojového stadia metodologicky nepřijatelné, vzhledem k nevalné podpoře bazálních větví stromu je každé sekvence škoda (nemluvě o možnosti identifikovat, kdo ke komu vlastně patří). Dokážu si představit různou obranu, proč tam aktinosporeová stadia nejsou, ale dopředu ji sledávám nepřijatelnou. Je to jako dělat fylogenezi motýlů a nedat tam sekvence, které pocházejí z housenek, je to jako dělat separátní fylogeneze ptáků podle samců a podle samic – je to prostě relikv z dob, kdy byly „Myxosporea s.str.“ a „Actinosporea“ považovány za validní taxony.

4. Z několika míst disertace (včetně diskuse v *Int. J. Parasitol.* 2006) jako by zaznívala víra, že v principu lze zjistit, co je a co není druh, na základě molekulárních distancí, akorát to dosud neumíme či neznáme dost sekvencí. To pochopitelně nelze za žádných okolností – jediné, co lze, je zavést, *vnutit* nějakou taxonomickou konvenci, ale to je právnícký akt, nikoli věda, a není na tom co zkoumat.

5. Zdá se, že se uchazeč zabýval i studiem stability topologie svých stromů, ale s výsledky těchto pokusů nás často neseznamuje (na rozdíl od uvádění podpory). Např. užívání různých outgroupů (*Malacosporea*, *Caenorhabditis*, *Xenopus*, *Polypodium*) nemělo zřejmě na topologii myxosporeí žádný vliv, ale to vyvozují pouze z faktu, že se o výsledcích nelze nic dozvědět. Vůbec užívání outgroupů není nejšťastnější: autor vytvořil fylogenezi celé skupiny (outgroup *Malacosporea*), vyšly mu dvě hlavní větve, sladkovodní a mořská, a každou z nich pak reanalyzoval, přičemž jako outgroup opět užil *Malacosporea*, tedy skupinu teď už relativně vzdálenou. Stálo by za pokus reanalyzovat mořskou skupinu s sladkovodními outgroupy a naopak.

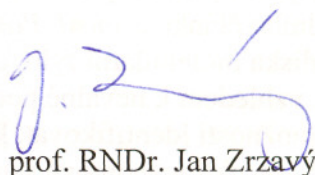
6. Zásadní objev nové skupiny myxosporeí (*S. truttae*, *S. elegans*, *L. ranae*) s dlouhými insercemi, a tedy s potenciálně významnou rolí artefaktů, by si zasloužil podrobnější analýzu, nejen rutinní prozkoušení několika metod zpracování jediné matice znaků s vírou, že některé metody artefakty spíš odhalí (výsledek, kdy všechny metody ukazují totéž, je pak pochopitelně neinterpretovatelný: buď tam žádné artefakty nejsou, anebo jsou tak silné, že s nimi nehne ani LogDet). Navrhoval bych právě zkoušení různých outgroupů, různých výřezů alignmentu apod.

7. Diskuse článku v *Int. J. Parasitol.* je v mnoha směrech nevyužitou příležitostí. Je to věčná škoda, že se tu o evoluci habitatu, hostitelů, hostitelských tkání apod. jenom povídá (lehce zmateně, protože autor tu sleduje topologii stromu, nikoli jednotlivé znaky, což ho nutí přeskakovat), ačkoli jsme dnes schopni kongruenci distribuce znaků a topologie stromu analyzovat zcela detailně. Formulace (str. 50) „observed discrepancies between SSU rRNA gene phylogeny and taxonomy based on morphology may indicate that the molecular phylogeny is not congruent with the true phylogeny or may indicate that the characters of spore morphology are homoplasious“ naznačuje, že je autor na nejlepší cestě k objevu kombinovaných (simultánních, totálních) analýz – stačí, aby ho napadlo ty diskrepance nějak explicitně testovat. Tento objev se už bohužel udál.

8. S tím souvisí i obecnější otázka – chystá se naše myxozoologická skupina na nějakou komplexní reklasifikaci myxosporeí? Cítím, že bude-li se i nadále čekat, „až bude dostatek informací“, ujme se toho někdo jiný, znám takové.

9. Nezapomeňme ani na několik legračních překlepů či stylistických neobratností, jež tu slouží především jako důkaz, že jsem to četl, namátkou „aktinosporama, plumattelae, považovat něco jako důležitý znak, rozporuplnost mezi taxonomií a fylogenezí, monofýlie“.

Závěrem opakuji, že disertační práce Ivana Fialy splňuje požadavky na udělení vědecké hodnosti PhD.



prof. RNDr. Jan Zrzavý, CSc.

## Posudek na doktorskou disertační práci RNDr. Ivana Fialy „Fylogenetické vztahy vybraných druhů a rodů myxosporeí“

V Praze, 29.9.2006

Doktorskou disertační práci RNDr. Ivana Fialy tvoří pět publikací vyšlých nebo přijatých v časopisech *Folia Parasitologica* a *International Journal for Parasitology*, a jeden poster prezentovaný na mezinárodní konferenci. Tento soubor je doplněn kapitolami Úvod (5 stran), Shrnutí výsledků (4 strany) a přehledem použité literatury. Úvod je opravdu dosti stručný a při jeho čtení jsem se neubráníl dojmu, že by mu velkorysejší pojetí neuškodilo.

Nejpodstatnější částí předložené práce jsou ovšem odborné publikace a zde není o autorových schopnostech pochyb. První tři publikace se zabývají popisy dvou nových druhů myxozoí a redeskripcí jednoho druhu nedokonale známého. Jsou zde podrobně a ve vysoké kvalitě zdokumentovány jejich myxospory, životní cykly, patologie apod. Protože mnoho druhů myxosporidií bylo zjevně popsáno zcela nedostatečně, mohou tyto publikace mj. sloužit jako návod na deskripci nových druhů myxosporidií. Publikace jsou doplněny i fylogenetickou pozicí nových druhů. Čtvrtá (poster) a pátá publikace se zabývají fylogenezí tří rodů myxosporeí a přesvědčivě ukazují jejich polyfylii. Konečně šestá publikace, kterou autor sám pokládá na nejvýznamnější (a já s ním souhlasím, svědčí o tom už kvalitnější časopis) se podrobně zabývá fylogenetikou celé skupiny myxosporeí. Výsledky jasně potvrzují, že mnoho rodů myxosporeí je polyfyletických a že klasická definice rodů na základě morfologie myxospor zcela selhává a v budoucnu bude třeba zaujmout k celé této veliké skupině zcela jiný postoj. Autor také velmi fundovaně a přesvědčivě diskutuje výjimky rozdělení myxosporeí (odhlédneme-li od bazální skupiny kolem *Sphaerospora truttae*) na mořskou a sladkovodní větev. Je nutno vyzdvihnout, že Ivan Fiala je jediným autorem této publikace.

K tématu mám několik otázek:

1. Všechny rukopisy prošly recenzním řízením v renomovaných mezinárodních časopisech a protože nejsem odborník na Myxozoa, nepřísluší mi příliš přezkoumávat správnost postupů a oprávněnost jejich interpretací. Jednu poznámku si přesto neodpustím. V diskusi poslední publikace autor uvádí, že metoda minimální evoluce s LogDet distancemi a Bayesovská analýza nejsou ovlivněny LBA artefaktem. Mohl by autor uvést zdroj, ze kterého čerpal při tomto tvrzení? Pokud by tomu tak totiž bylo, změnil by se jeden z největších problémů

současné molekulární fylogenetiky v neškodnou statistickou hříčku. Neustávající diskuse o LBA a o fylogenetické pozici např. diplomonád a trichomonád o tom nesvědčí. Pokud vím, LogDet distance bývají aplikovány pro odfiltrování vlivu rozdílného složení basí (které ovšem také může LBA způsobit). Liší se sekvence druhů kolem *S. truttae* od ostatních myxosporidií v GC obsahu? V současné době je používáno několik metod pro odhalení popř. oslabení LBA artefaktu, často se jedná o analýzu „pomalých“ pozic.

2. Je znám nějaký morfologický nebo biologický znak, který by mohl vysvětlit bazální pozici skupiny kolem druhu *Sphaerospora truttae*?

3. V současné době je fylogeneze myxosporidií odvozována pouze ze sekvencí genů pro SSU a LSU rRNA. Autor se zmiňuje o nutnosti získání sekvencí i dalších genů. Jaké geny přicházejí do úvahy? Preferuje autor analýzy konkatenátu nebo analýzy jednotlivých genů? Jaký je podle autorova názoru optimální způsob implementace (pokud vůbec) morfologických znaků do analýz? Má již autor v tomto ohledu nějaké výsledky?

3. Mnoho rodů myxosporeí je zjevně poly- nebo parafyletických. Je v současné době možná (popř. i připravovaná) revize této skupiny na rodové úrovni?

Z práce Ivana Fialy na čtenáře přímo číší jeho schopnosti kvalitní a precizní vědecké práce, stejně tak jako jeho široký přehled a schopnost kritického pohledu na řešenou problematiku. Pohledem na Web of Science jsem kromě toho zjistil, že je spoluautorem řady dalších publikací, které nebyly do této práce zahrnuty. Jsem přesvědčen, že předložená práce svou kvalitou naprosto splňuje požadavky obvykle kladené na doktorské disertační práce a jako takovou ji doporučuji k obhajobě.

Ivan Čepička

Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta

Viničná 7

128 44 Praha 2

