

Posudek

na kandidátskou dizertaci Mgr. Venduly Šlechtové „*Phylogenetic relationship of loach fishes of the superfamily Cobitoidea (Teleostei: Cypriniformes) based on molecular data analyses*“, předloženou na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

Kandidátská práce Mgr. Venduly Šlechtové obsahuje celkem 155 stran a je členěna obvyklým způsobem, tzn. že obsahuje úvodní text, členěný na šest dílčích podkapitol a pak je přiloženo 6 vědeckých publikací, z nichž 4 byly již publikovány, dvě jsou v podobě rukopisu. V závěru dizertace jsou vlastní výsledky komplexně zhodnoceny. Autorka si vybrala pro své studium velmi vhodnou skupinu ryb, zajímavou nejen z mnoha vědeckých hledisek, ale i široce oblíbenou i mezi akvaristy po celém světě.

Předložená práce se zabývá fylogenezí nadčeledi ryb Cobitoidea na základě analýzy molekulárních dat. Hlavní v práci vytyčené úkoly byly následující:

- vytvoření kladogeneze základních vývojových linií a srovnání výsledků s dosavadními systematickými hypotézami především s ohledem na validitu čeledi
- rekonstrukce fylogeneze čeledi Cobitidae a Botiidae a ověření platnosti rodů v těchto čeledích
- vyjasnění fylogenetické pozice řady nejasných taxonů v rámci nadčeledi Cobitoidea
- vyjasnění fylogenetických vztahů v rámci vybraných rodů čeledi Cobitidae a rekonstrukce jejich evoluce s ohledem na zoogeografické, morfologické a cytogenetické hledisko.

Součástí dizertace jsou kopie vědeckých článků, kde autorka byla členkou autorských týmů, ve všech případech mezinárodního složení. Prvním je studium molekulární fylogenie čeledi Botiidae na základě genetických dat a původu polyploidie v jejich evoluci. Druhým je genetická analýza nadčeledi Cobitoidea a revize čtyř rodů (*Barbucca*, *Psilorhynchus*, *Serpenticobitis* a *Vaillantella*). Obsah dalšího článku vyplývá z jeho názvu „Nízké mitochondriální rozdíly indikují rychlou expanzi v Evropě u rodu *Misgurnus*“. Posledním z již publikovaných příspěvků je věnován molekulární fylogonii čeledi Cobitidae, revizí rodů a také evoluci sexuálního dimorfismu v této skupině ryb. Dále jsou přiloženy rukopisy článků určené k tisku. Jsou věnovány zevrubné analýze rodu *Ellopostoma*, která vyústila v popis zcela nové čeledi Ellopostomatidae. Poslední přílohou je text věnovaný fylogonii rodu *Pangio* a jeho využití jako modelu v biogeografii.

Za velmi cenné spatřuji široký záběr autorky ve sledované problematice a zejména to, že nezůstává jen na cytogenetické platformě, ale při definování příslušných taxonů a fylogenetických hypotéz se věnuje též např. aspektům morfometrickým, zoogeografickým či fylogeografickým. Ukazuje se, že v současné době hrají v moderní taxonomii ryb významnou roli právě genetické populační analýzy. Jejich význam tkví nejen v získání věrohodnějších a spolehlivých podkladů sloužících k vytváření různých evolučních hypotéz, ale nezastupitelné místo nacházíme rovněž v praktickém využití poznatků v ochraně ryb, resp. jejich biodiverzity, a to jak mezidruhové, tak i mezipopulační.

Vysoká odbornost a praktické zkušenosti Mgr. Venduly Šlechtové jsou doloženy seznamem článků (řada z nich je publikována v renomovaných mezinárodních časopisech), účastmi na mezinárodních konferencích a stážích. Závěrem mohu konstatovat, že předložená práce splňuje veškeré požadavky na práci tohoto typu, po odborné stránce ji hodnotím jako mimořádně kvalitní neboť přináší nové originální výsledky, využitelné hned v několika

oblastech ichtyologie, zoologie i genetiky. Uchazečka splnila všechny úkoly vytýčené v úvodu práce. Jelikož dizertační práce obsahuje všechny potřebné náležitosti, je mojí milou povinností doporučit ji komisi k přijetí jako plně vyhovující.

K autorce bych měl následující dotazy v rámci rozpravy:

- 1/ jak prakticky řešit případy, kdy genetické a biochemické analýzy rybích populací jednoznačně vyčlení taxon na druhové úrovni a habituelně (morfometricky, zbarvením) nejsme schopni jedince patřící k tomuto druhu (zatím) identifikovat?
- 2/ jak se díváte na validitu druhů ryb popisovaných na základě především fyziologických, ekologických či etologických charakteristik?
- 3/ které druhy jsou nejvíce vývojově příbuzné s nově popsáním druhem *Cobitis jadovaensis* ?

1.6.2008

Prof.RNDR.Lubomír Hanel, CSc.



**Posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Venduly Šlechtové
„Phylogenetic relationships of loach fishes of the superfamily Cobitoidea
(Teleostei: Cypriniformes) based on molecular data analyses“**

Předložená disertační práce prezentuje na 155 stranách výsledky genetického studia (v některých případech doplněného o cytogenetické a morfologické analýzy) sekavců nadčeledi Cobitoidea. Analýza fylogenetických vztahů je uspořádána hierarchickým způsobem, tj. na úrovni celé nadčeledi, čeledi a rodů. Základem práce je 6 článků, ať už publikovaných nebo ve stadiu rukopisu, které jsou doplněny vlastním textem. Za velice přínosné a ne vždy zcela běžné považuji skutečnost, že jednotlivé články nejsou pouze pospojovány dohromady, ale tvoří kompaktní celek. Celkový dojem celistvého příběhu navozuje už úvodní Prolog, který jakoby čtenáře lákal na společnou cestu historií genetického výzkumu sekavců. Celá práce je nakonec uzavřena rozsáhlým souhrnem, který konfrontuje dosažené výsledky s předchozími pracemi a zdůrazňuje prioritní nálezy.

Na tomto místě si oponent zpravidla povzdechne nad nevděčnou úlohou posuzovat práci složenou z publikací, které již prošly sítím recenzních řízení. Obtížnost celé situace obvykle vzrůstá s prestiží časopisů, ve kterém byly předmětné články publikovány. Nejinak je to i v tomto případě. Hledat chyby v časopisech jako je např. *Mol. Phylogenet. Evol.* je jako hledat pověstnou jehlu v kupce sena. Oponent je nakonec rád za každou drobnou nesrovnalost či překlep, které objeví, jako například chybný spelling programu DNsp (místo DnaSP), nebo že v Článku II jsou v kap. 2.3.2. použity zkratky ML a BI, které jsou však vysvětleny až v kapitole následující. Přesto mám k autorce pár dotazů a poznámek, vesměs drobností.

1. V Článku I jsou fylogenetické stromy na obrázcích 1 a 2 citovány už v Úvodu. To působí poněkud matoucím dojmem, protože není zcela jasné, jestli jsou založeny na originálních, nebo již publikovaných datech. Jde o nedopatření nebo o zvyklost daného časopisu?
2. Článek IV, str. 66: extrémně nízká úroveň genetické proměnlivosti u *Misgurnus fossilis* a charakter haplotypového stromu skutečně ukazují na silný bottleneck a současnou expanzi tohoto druhu, nelze však vyloučit i jiné alternativy (jak autoři sami naznačují). O populační expanzi zpravidla svědčí vysoké hodnoty haplotypové diverzity (h) a nízké hodnoty nukleotidové diverzity (π), v tomto případě jsou však velmi nízké *oba* parametry. V práci bohužel chybí jakákoli kvantitativní analýza (např. založená na maximální věrohodnosti nebo na testech vycházejících z mismatch distribution). Uvedené závěry jsou potom poněkud subjektivní. V tomto kontextu trochu nerozumím větám (str. 70, ř. 23-25) o tom, že předpokládaný bottleneck nemusel probíhat během posledního glaciálu, ale už dříve – pokud by došlo ke snížení velikosti populace v předposledním glaciálu, tento bottleneck by se musel buď opakovat, nebo by musel trvat až do posledního zalednění. Navíc tento bottleneck musel být velmi silný a populační expanze velmi recentní. Ovšem jak autoři sami správně uvádějí, existuje i alternativní vysvětlení působením selekce na cytochrom b. V tomto světle je pak ale název článku poněkud zavádějící. K diskuzi k článku IV mám dvě otázky: 1. Jak probíhala migrace *M. fossilis* podél Černého moře – znamená to, že tento sladkovodní druh snáší i slanou vodu? 2. Jak probíhala kolonizace střední Evropy z Dunaje přes Labe?
3. Článek VI: u prezentovaných stromů není jasné, co tvoří jejich kořen, chybí outgroup i srovnání s jinými skupinami sekavců. Postrádám i uvedení procenta divergence mezi třemi hlavními liniemi (i když se tyto divergence dají zpětně spočítat z uvedených divergenčních časů). Autoři všechny linie považují za kongenerické – to je sice legitimní, ale podle doby jejich odštěpení



(řádově desítky milionů let) bych očekával spíše zařazení jednotlivých linií do samostatných rodů.

V diskuzi na str. 112 o nesouladu mezi cyt b a RAG-1 (vysvětlení hybridizací) postrádám i alternativní možnost: rychlá radiace obou druhů, která by vedla ke genetické mozaikovosti, nebo recentní speciaci a neúplné sortování linií (incomplete lineage sorting).

4. Summary, str. 126: místo stromu nahoře (Šlechtová et al. 2007) by bylo ilustrativnější prezentovat novější výsledek, kde by bylo vidět všech 8 čeledí Cobitoidea.
5. Str. 128: Přítomnost suborbitálního trnu (omlouvám se, jestli tento český termín není přesný) je prezentována jako plesiomorfni znak (přesněji jako symplesiomorfni, to je ale chybné, protože není přítomen u všech čeledí). Avšak vzhledem k tomu, že tento trn má u Cobitidae a Botiidae jiný charakter, nejde spíše o homoplazii?
6. Appendix 2: U *Cobitis pacifica* jsou uvedeny dvě fotografie (A2002, A2007) – v obou případech jde o ryby z téže řeky, přesto jsou oba exempláře vzhledem dost odlišné. Jaké má autorka vysvětlení?

Výše uvedeným výčtem v zásadě marginálních poznámek a dotazů jsem dostal své povinnosti oponenta a ukojil svou ješitnost, už ze samé jejich marginálnosti však vyplývá, že k předložené práci nemám závažnější připomínky. Naopak, jsem přesvědčen, že tato práce je nadprůměrně kvalitní a svědčí o velké pili i širokých znalostech Mgr. Šlechtové. Vskutku, kvantum získaných výsledků je ohromující a není pochyb, že v mnoha případech znamenají průlom do znalosti systematických vztahů dané nadčeledi. Navíc musím zopakovat, že autorka se neomezila jen na pouhý výčet získaných dat, ale dala si práci s jejich interpretací a formulováním do uceleného příběhu, což musí ocenit zejména neodborníci, mezi něž se sám počítám. S radostí doporučuji práci Mgr. Šlechtové k obhajobě a po jejím úspěšném průběhu doporučuji dle znění platné vyhlášky udělení titulu Ph.D.

V Brně dne 1.6.2008

Prof. RNDr. Miloš Macholán, CSc.

Vendula Šlechtová

2008

*Phylogenetic relationships of loach fishes of the superfamily Cobitoidea
(Teleostei: Cypriniformes) based on molecular data analyses*

posudek oponenta

Doktorská disertační práce Venduly Šlechtové založena na čtyřech publikovaných pracích (3x *Mol. Phylogen. Evol.*, *J. Fish Biol.*), dvou rukopisech a dosti rozsáhlých kapitolách v úvodu a závěru práce. Není nejmenších pochyb, že jde o úctyhodné dílo, za něž by bylo možno získat titul PhD na libovolné univerzitě, že Vendula Šlechtová prokázala mimořádnou schopnost samostatné vědecké práce v zoologii (od terénní práce přes laboratorní metody po fylogenetické analýzy) – a tak dále. Zajímavější než další vršení chvály (doplněné o rituální větu, že „práce vesměs prošly náročným recenzním řízením, a oponent tudíž nemá, co by dodal“) by mohla být následující témata k zamyšlení, eventuálně k diskusi.

1. Celou prací prochází upřímné přesvědčení autorky, že taxonomické úrovně („ranks“) mají nějaký význam, že tedy „čeleď“ je něco zásadně odlišného než třeba „rod“, což je samozřejmě nesmysl. Je to takový nesmysl, že by o tom ani nestálo za to mluvit, jenže disertace by se dala zredukovat odhadem o nějakých 10 % textu, kdyby se v ní nevedly řeči o tom, že nějaká skupina dosahuje úrovně čeledi a jiná zase ne. Ve skutečnosti není vůbec žádný rozdíl mezi „rodem“ *Ellopostoma* a „čeledí“ Ellopostomatidae, pokud oba taxony obsahují stejné druhy, „rank“ taxonu není o nic vědecktější než jeho jméno. Důležitá je monofylie taxonu a jeho fylogenetické postavení. Chápu, že stávající nomenklatorická pravidla nutí autory, aby se těmito záležitostmi zabývali, nicméně není žádný důvod to nějak podrobněji diskutovat.

2. Jak už jsem autorku upozorňoval, fylogenetické stromy jsou relativně nejméně věrohodné v místech svých nejbazálnějších větvení, a proto je třeba velmi pečlivě vybírat použité outgroupy, neomezovat se na outgroup jediný, respektive nic nevyvozovat z topologie stromu hned nad kořenem. Na stromu na str. 22 je to mimořádně, takřka učebnicově patrné: kdyby si *Gymnotus*, tedy zvíře velmi vzdálené a poměrně dost divné, sedl o jednu větev vedle, stali by se catostomidi sesterskou skupinou cyprinidů. Z tohoto stromu nic přesvědčivého o postavení catostomidů a gyrinocheilidů neplyne, což vlastně nevádí, když se práce zabývá fylogenezí „loaches“, ale postavení obou bazálních skupin by pak nemělo být v tomto kontextu diskutováno. (Autorka má štěstí, že to v pozdějších pracích vyšlo stejně – svým artefaktem se náhodou trefila.)

3. Vůbec je zjevné, že autorka a její tým věří v samospasitelnost zázračných fylogenetických metod. Stabilita určitých sporných topologií není nikde testována např. změnou druhového samplingu (míním změnu řízenou, na rozdíl od různých bootstrapů), ačkoli např. otázka monofylie a bazálního postavení skupiny *Leptobotia* + *Parabotia* si o to úplně říká (tj. vyšly by oba rody na bázi botiidů, kdyby tam ten druhý nebyl?).

4. Rukopis práce o r. *Ellopostoma* mi připadá jaksí nehotový, pokud jde o exploataci rozsáhlé morfologické (a cytogenetické) analýzy. Dokážu si představit kombinovaný morfologicko-molekulární strom, morfologický strom konfrontovaný s molekulárním, morfologické znaky

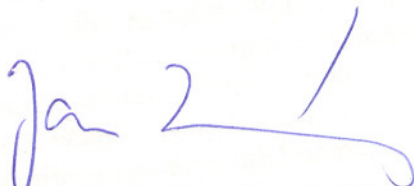
optimalizované na molekulární strom – ale není tam nic, **dokonce ani kompletní morfologická matice**, pouze tabulka znaků, jimiž se *Ellopostoma* liší od ostatních skupin.

5. Biogeografie je samostatná věda se spoustou vlastních metodik. Prosté mapování areálů rozšíření na fylogenetické strom obecně nevede k dobrým koncům (disperze je něco jiného než apomorfie, fylogenetická interpretace je zcela odlišná a výsledky taky).

6. Celá práce je pochopitelně v angličtině. Při čtení úvodních kapitol jsem měl občas pocit, že tento jazyk ovládám hůř, než jsem si myslel, ale situace jako by se podstatně zlepšila, když jsem přešel k publikovaným pracím. Přemýšlel jsem nad touto podivnou anomálií a dospěl k závěru, že anglický jazyk vskutku dokonale neovládám, ale patrně v tom nejsem sám.

Závěrem mohu jenom opakovat, že disertační práci V. Šlechtové rád **doporučuji k obhajobě**.

15. června 2008


prof. RNDr. Jan Zrzavý, CSc.