

Pavel Sroka
Systematika jepic (Ephemeroptera) čeledi Baetidae
2011

posudek oponenta doktorské disertační práce

Práce Pavla Sroky pozůstává z českého úvodu (22 stran) charakterizujícího zkoumanou skupinu, její fylogenezi, klasifikaci (včetně dosti dávné historie) a biogeografii a ze tří původních vědeckých prací, dvou publikovaných v roce 2010 časopise *Zootaxa* (IF 0.891) a jednoho rukopisu zatím nejasného určení.

Úvod je zajímavý a dobře napsaný, osobně bych v biogeografických pasážích uvítal spíše historickou biogeografii než faunistické popisy diverzity jednotlivých oblastí (zvláště u skupiny vodní a s omezenou disperzní schopností by srovnání historicko-biogeografických vztahů mezi oblastmi se skupinami např. edafickými mohlo být velmi zajímavé). K textu nemám závažnější výhrady, jen pár jazykových detailů, obvykle anglicismů (Karbon, Gondyanské desky, viz., jižní Amerika, Himaláje, Australské jepice), několik chybějících čárek, text k obr. 1 na str. 4 neodpovídá obr. 1 hned pod ním (taxon *Rectracheata* tam nikde uveden není) apod.; provokuje několik spíše neobratných formulací (str. 1 – pokud je značná část čeledi monogenerických a zároveň reprezentují „nedávno vzniklé skupiny“, naznačuje to přežívání parafyletických taxonů v taxonomii jepic, což by stálo aspoň za zmínku; str. 2 – údajné společné morfologické znaky paleopter z větší části skoro určitě nejsou plesiomorfni). Doporučoval bych (i v rukopisech) trochu omezit užívání linnéovské hierarchie („čeleď“, „rod“ apod.) tam, kde to není – např. z nomenklarovských důvodů – nutné, je to dnes už přece jenom trochu obstarožní a člověk nemusí být zastáncem PhyloCodu, aby si uvědomoval, že to nic neznamená a spíš to zavádí.

Obě publikované práce jsou alfa-taxonomické a jako takové těžko oponovatelné – plyne z nich autorova morfologická a taxonomická erudice, jakož i ochota věnovat se tomuto typu práce, v dnešním světě spíše vzácná, ale pro rozvoj jednotlivých entomologických disciplin nezbytná. Zdá se, že (mj.?) zásluhou Pavla Sroky česká efemeropterologie nevyhyne, na rozdíl od jiných druhdy kvetoucích taxonomických oborů.

Jádrem práce je fylogenetická studie „čeledi“ Baetidae založená na kombinaci molekulárních (COI) a morfologických znaků. Jde o standardní a dobře udělanou studii založenou na velkém množství získaných dat. Způsob, jakým je napsána, je možná trochu příliš těžkopádně „taxonomický“ (seznamy podrodů, dlouhý popis výsledků i diskuse orientovaná mechanicky podle taxonů), což může zkomplikovat přijetí práce, zkrácení a větší švih by jí jistě prospěly. Význam výsledků je patrně omezen zaměřením na západopalearktické druhy téměř kosmopolitní skupiny (pokud západopalearktické druhy tvoří monofyletickou podskupinu). Pro laika je text o „*Baetis*-complex“ a „non-*Baetis* complex“ (str. 64) těžko sledovatelný – pomohlo by nějaké schéma různých klasifikací. Práci paradoxně trochu uškodil fakt, že je založena na minulé taxonomii, která byla *dobře* – nestává se často, že v molekulární práci vyjdou všechny druhy monofyletické (poklona jepičím alfa-taxonům!), ale pak zase není moc co diskutovat. Vysoce hodnotím autorovu snahu o kvantifikaci vnitro- a mezidruhových divergencí v sekvencích COI (zda je metodika párové K2P úplně adekvátní, necht' posoudí spíš populační genetik nebo fylogeograf) i výsledek, který ukazuje, že molekulární

barkódování všeho živého je sice užitečná pomůcka, ale jako věda je to založeno na zcela naivních základech.

K práci mám tři připomínky:

1. podíl morfologických a molekulárních dat na topologii kombinovaného stromu (když už je diskutován) by měl být nějak kvantifikován (PBS apod.);
2. kombinovaná matice patrně povstala tak, že k alignmentu *jedinců* byly připojeny „druhové“ morfologické znaky, tj. všichni jedinci jednoho druhu dostali mechanicky stejnou morfologii – správnější by bylo vytvořit morfologickou matici pro všechny studované jedince (nebo aspoň geografické populace), a pokud jsou opravdu všechny druhy ve všech 47 znacích uniformní, tak to explicitně zmínit;
3. multistátní morfologické znaky byly analyzovány jako neaditivní („unordered“), což zjevně neodpovídá znakům 12-14, 35, asi i 45,

Detailní připomínky nestojí za řeč, jenom je uvádím na pomoc autorovi (Baetidae nemá být kurzívou, raději „taxocoenosis“ než „taxocoenose“, má být „unoredered“, ne „unordinated“, nemá smysl uvádět zároveň konzistenční a homoplastický index, protože $HI = 1 - CI$, „occur₁“, parafyletická skupina nemůže být ničemu sesterská).

Závěr: Disertační práci Pavla Sroky hodnotím jako kvalitní taxonomické dílo a doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 22. 2. 2011



prof. RNDr. Jan Zrzavý, CSc.

Oponentský posudek disertační práce Pavla SROKY „Systematika jepic (Ephemeroptera) čeledi Baetidae“

Práce je členěna na (1) česky psaný úvod, shrnující zejména názory na vnitřní taxonomické členění a fylogenezi jepic a jejich rozšíření v jednotlivých biogeografických oblastech a (2) tři anglicky psané práce (dva publikované články a jeden rukopis).

Úvodní česká část je přehledně strukturovaná, psaná čitelným slohem. Rušivé jsou pouze některé jazykové nejednotnosti – autor i v češtině podléhá anglosaským vlivům: píše názvy biogeografických oblastí, geologických epoch atd. s velkým počátečním písmenem („Orientální oblast“, „Karbon“, „Neopterní hmyz“), „viz.“ (str. 4, 5), „generické ... úrovní“ (str. 9) apod. Patrně omylem je na druhé straně práce uvedeno u citace práce v roce „2010“ a na titulní straně a v podpisu na druhé straně „2011“. Nešikovné mi připadají i formulace o „bazálním“ odštěpování čeledi Baetidae ve fylogenetickém stromu (str. 5). Proč jsou u čeledi Baetidae uvedeny diagnostické znaky a nikoliv (také) její apomorfie (str. 7–8)?

V úvodním textu mi výrazně chybí alespoň krátká pasáž, která by explicitně zasazovala dvě publikované alfataxonomické práce a rukopis o fylogenezi rodu *Baetis* do kontextu v úvodu podaného přehledu, a nějak úžeji vymezovala poměrně široké téma disertace.

První práce s popisem dvou nových druhů rodu *Acentrella* publikovaná v časopise *Zootaxa* má standardní strukturu taxonomické práce a je psána srozumitelnou angličtinou, je ilustrována pěknými pérovkami (u kterých ale chybí měřítko) a fotografiemi z elektronového mikroskopu. Uvedené typové lokality by bylo vhodné zpřesnit alespoň přibližnými zeměpisnými souřadnicemi. Drobným formálním prohřeškem je uvedení dvou druhů v nové rodové kombinaci v katalogu druhů na konci práce bez jakéhokoliv komentáře vysvětlujícího, co k tomu kroku autory vede; tato nomenklatorická informace chybí také v abstraktu. Zařazení třináctého druhu jako „species inquirenda“ podle mne také zasluhuje nějaký komentář.

V diskusi autoři opouštějí kladistickou metodologii, když diskutují o vztahu linie tvořené dvojicí nově popisovaných druhů v rámci rodu *Acentrella* k dalším podobným rodům (např. „[both species] ... probably represent a lineage very closely related to *Liebebiella* and *Platybaetis*“, str. 14 článku). Jsou zmíněné rody dobře charakterizovány jasnými morfologickými apomorfiemi nalezenými moderní kladistickou analýzou? Pokud nikoliv, nejsou tyto úvahy předčasné?

Druhá publikovaná práce podává redeskripci druhu *Procleon fascicaudale* s diskusí o jeho taxonomickém postavení, rozšíření a biologii, publikovaná opět v časopise *Zootaxa*. Je psána srozumitelnou angličtinou, dobře ilustrována, na základě bohatého materiálu z několika lokalit ze

Rhodu diskutuje morfologickou variabilitu druhu u většiny vývojových stadií včetně struktury chorionu vajíčka. Jako nespécialistovi mi jen není jasné, zda vajíčka byla získána přímo v terénu či nakladena chycenými samicemi?

Nejrozsáhlejší je třetí rukopis, shrnující taxonomii a fylogenezi západopalearktických zástupců rodu *Baetis* s použitím morfologických i molekulárních metod, hodnocené metodami maximální parsimonie i bayesiánskými metodami. Podrobně je diskutována historie klasifikace a vymezení tohoto rodu, s řadou skupin chápaných různě jako rody, podrody či druhové skupiny v rámci rodu *Baetis*. V morfologické analýze je analyzováno 47 znaků, molekulární analýza se zaměřuje na úsek 490 nukleotidů mtDNA (COI).

Práce je logicky členěna, psána srozumitelnou angličtinou. Není mi srozumitelná logika, podle které byl seřazen materiál v rozsáhlé tab. 1 (str. 68–70) – doporučuji např. abecední řazení podle taxonů, navíc označení jedinců s koncovkou „CZ“ je použito i pro materiál z Bulharska a Gruzie (str. 68) – nejedná se o překlep? Na str. 87 je omylem uvedeno „Caucasian subgenera“ místo „subspecies“. K textu mám několik otázek:

(1) Proč byly všechny morfologické znaky analyzovány jako neseřazené (unordered), včetně např. poměrů délek tělních přívěsků (znaky 13, 14, 45) (str. 70–71)?

(2) Proč byly vybrány druhy *Ameletus inopinatus* a *Ephemerella ignita* jako outgroup (str. 68)? V textu není žádné zdůvodnění. Čeleď Ephemerellidae (do které patří druhý zástupce) je řazena podle citované práce Ogdena et al. (2009) jako hluboce vnitřní skupina sesterské linie k čeledi Baetidae (str. 6 v úvodu).

(3) Proč byl pro molekulární analýzy použit jen jeden gen (úsek COI s délkou 490 bp) – mohla by robustnost analýzy (zde měřené pomocí bootstrapu, u většiny uzlů $\ll 25$) být zvýšena kombinací s dalšími geny? V textu zmiňovaná snaha o využití tohoto úseku pro barcoding není totožná s využitím pro fylogenetické analýzy.

Celkově shrnuji: disertační práce je kvalitní a dokládá schopnost samostatné, soustavné vědecké práce Pavla Sroky.

Práci doporučuji k obhajobě!

V Praze, dne 22. února 2011

doc. Mgr. Jan Růžička, Ph.D.

Katedra ekologie
Fakulta životního prostředí
Česká zemědělská univerzita v Praze
165 21 Praha 6 – Suchbátův





MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV BOTANIKY A ZOOLOGIE

Oponentský posudek na dizertační práci

RNDr. Pavel Sroka

Systematika jepic (Ephemeroptera) čeledi Baetidae

Předložená dizertační práce Pavla Sroky, vypracovaná na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, je vyústěním několikaleté práce na doktorském projektu studenta, podpořeném i grantem GAČR No. 206/08/1389.

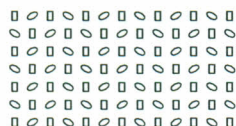
V současné době se hovoří o nutnosti intenzifikace studia taxonomie hmyzu a jejím novém pojetí. Tyto trendy však mohou stále stavět jen na širokých encyklopedických znalostech skupiny, dostatečném materiálu i zázemí literárních zdrojů a na obrovské spoustě času badatele, má-li být dosaženo kvalitních výsledků. Velkou pomocí při precizaci výsledků však může být zavádění principů integrativní (polyfázové) taxonomie, které jsou rozpracovávány v entomologii zcela recentně a propojují ji i s dalšími vědními obory. Jde o dosažení shodných výsledků, podporujících autorovu teorii, která vychází z klasického přístupu, s nezávislými a paralelními metodami využívajícími jiná zdrojová data a metody jejich hodnocení. Takové pojetí autor ve své dizertaci nastínil a propojil klasickou deskriptivní morfologií (s úplným výše uvedeným zázemím) s molekulárními analýzami, za účelem podpory jeho výstupů.

Komentář k jednotlivým částem práce

Dizertační práce obsahuje vstupní rukopisný text (22 str.), 2 zveřejněné práce publikované v kvalitním časopisu s IF a 1 rukopis dosud nezveřejněné práce, připravovaný k tisku. Nechybí ani doklad o autorském podílu na jednotlivých pracích. Z formálního hlediska je vše přehledně uspořádáno, i když mnohé informace je zapotřebí hledat napříč dizertací, a to zejména v té závěrečné rukopisné části.

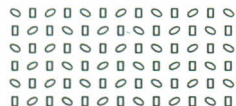
Vzhledem k tomu, že téma zadání je velmi široké, jistě by bylo užitečné vědět, nakolik doktorand naplnil zadání tématu dizertace a tím i záměr školitele. Z didaktického hlediska by tak bylo zapotřebí předřadit všemu ostatnímu zřetelně formulované cíle, týkající se celé dizertace. Na tyto cíle by pak měl navazovat společný dizertační abstrakt, který by sumoval nejdůležitější závěry z příložených publikací i připraveného manuskriptu. To by napomohlo, alespoň částečně, propojit dizertaci do logického celku. Poznámka: nalezené cíle práce (na str. 66) jsou jasné, stručné a vyčerpávající, ale zjevně se týkají jen připraveného rukopisu (Příloha III).

Úvodní část (od str. 1), je vyčerpávajícím rešeršním přehledem, a tím i širokým vstupem k poznání jepic a jejich rozšíření, jako dobře vymezeného celku. Od str. 7 se pak informace specializovaně týkají jepic zvolené čeledi Baetidae. V tomto úvodu autor prostudoval obrovské množství publikací (str. 13-22), jak zcela recentních (2010), tak sahajících až hluboko k Linnému, které využil pro přípravu všech strukturovaných částí „Vstupu do problematiky“ dizertace. V této souvislosti je třeba upozornit na dokonalou formální stránku zápisů citací těchto prací (str. 13-22).



MASARYKOVA UNIVERZITA, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA, Kottlářská 2, 611 37 Brno
Veřejná vysoká škola zřízená zákonem, nezapisuje se do obchodního rejstříku.
tel.: +420 549 49 1411 • fax: +420 541 211 214 • www.sci.muni.cz
Bankovní spojení: KB, pobočka Brno, č.ú.: 85636621/0100 • IČ: 00216224 • DIČ: CZ00216224

Pracoviště: Terezy Novákové 64, Brno-Řečkovice (není poštovní adresa)
Tel. sekretariát 532146113 • Fax a záznamník 532146213
E-mail sekretariát: vslezak@sci.muni.cz, zoolecol@sci.muni.cz



Součástí tohoto úvodu je i zařazení mnoha základních informací, přesahujících vymezenou problematiku dizertace, a tak některá úvodní konstatování o jepicích působí až poněkud učebnicově. Nicméně, tato část se jistě může stát velmi rychlým úvodem ke studiu jepic i pro možné nové zájemce.

K lepšímu propojení všech částí dizertace by bylo dobré komentovat i citovat v rešeršní části i práce samotného autora, přestože se jedná o 3 části Přílohy. Vše by se tak dostalo do sumarizujících souvislostí, na kterých by měla být tato úvodní část dizertace, typu „soubor publikací“, postavena. A ještě jedna drobná poznámka, autor v této části rovněž informuje o možnosti nalézat souběžně k tištěným i některé zdroje na webu, schází však odkazy, které by čtenáři umožnily okamžitý přístup k tomuto informačnímu zdroji, dnes už běžně zařazovanému i renomovanými časopisy do kapitoly „Literatura“ (např. str. 11, Barber-James et al. 2008).

Informace o „Materiálu a metodách“, které autor využíval při řešení dizertace, už nejsou součástí vstupní rukopisné části a musíme je hledat v samostatných přílohách. Pominu-li tyto kapitoly ve 2 publikovaných pracech autora, je možno se vyjádřit k části rukopisné (str. 68-72). První věta je nepřesně formulována, materiál „nemohl být sbírán v“ 70-96% etanolu, ale „byl konzervován v“. V Tab. 1 bude zapotřebí přidat pro plánovanou publikaci sloupec kódu povinného vložení analyzovaných jedinců do databáze GenBank-u (GenBank accession No....).

Druhy čeledi Baetidae byly již analyzovány jinými autory pomocí 5 genetických markerů. V předkládané práci byl použit pouze 490 bp dlouhý fragment COI (str. 70). Proč autor nepoužil další markery za účelem zvýšení věrohodnosti výstupů, když COI vykazovala vysoký stupeň vnitrodruhové variability (str. 63), a tak odlišení případných kryptických druhů bylo ztíženo. Zvolený genetický marker je hlavním nástrojem barcodingu, ale jeho využití k přesné druhové determinaci je objektem častých a vášnivých diskuzí.

Při extrakci DNA autor uvádí problémy s materiálem, podle našich zkušeností pro amplifikaci tak krátkého úseku mitochondriální DNA není kvalita vstupní tkáně příliš zásadní, v naší laboratoři amplifikujeme úseky mitochondriálních markerů i z 10-20 let starých vzorků, včetně suchého muzejního materiálu, problémem je pouze případné předchozí formaldehydové konzervování.

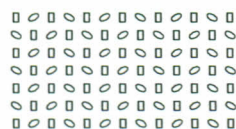
Bylo by dobré podrobněji popsat laboratorní metody, autor nikde neuvádí použití elektroforézy ani následné analýzy, neuvádí ani jak provedl „alignment datasetu“, použil-li „Modeltest“ pro ověření nejvhodnějšího modelu pro Bayesovou analýzu, resp. který model byl použit. V případě Bayesovy analýzy molekulárního datasetu „Standard Deviation“ neklesla pod 0.01, proč nebyly přidány další generace? Ve fylogramech Bayesovy analýzy nejsou uvedeny „posterior probabilities“ na úrovni větví nesoucích různé jedince téhož druhu, nebo jsou tyto hodnoty pouze nezobrazené?

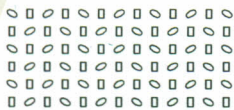
Při využití metody Maximum Parsimony bylo pro tak malý dataset patrně lepší zvolit více „bootstrapů“ než 500 (str. 72) (standardně 1000 a více replikací). Téměř ve všech případech mají výsledné fylogramy velmi nízký „Consistency index“ a zároveň vysoký „Homoplasy index“, což by mohlo vést k závěru, že vybrané znaky (490 bp) jsou vesměs homoplázie. Celkově je v obou analýzách parsimonie velmi nízká podpora větví (str. 75,78).

Na základě tohoto komentáře bych pro připravovanou publikaci (Příloha III) doporučil přidat alespoň 2 markery pro zvýšení věrohodnosti fylogramů získaných oběma metodami.

Z „Výsledků“ (Přílohy I-III) lze vyčíst velký objem práce, který autor vynaložil při studiu zvolené problematiky. Dvě studie zveřejněné v Zootaxa dokládají vědeckou zdatnost autora i kvalitní mezinárodní spolupráci. Práce tohoto typu jsou naprosto zásadní a umožňují udržovat „taxonomický pořádek“ ve studované skupině. V připravovaném rukopisu jde převážně o fylogenetické závěry uspořádané do formy obrazových nebo tabelárních výstupů s nezbytným minimem komentujícího textu. Vlastní komentář je pak detailně rozpracován v obsáhlé kapitole „Diskuze“ (83-88) této přílohy III.

Směrování dalšího studia bývá velmi důležitou součástí diskuze dizertací, protože může zúročit





velkou autorovu znalost zpracovávané problematiky a umožňuje i dalším autorům plynule navázat na jeho studia. To jak bude autor pokračovat lze seskládat pouze z rozptýlených informací. Samotný manuskript (Příloha III) a jeho publikování je asi ten nejbližší krok, který autor plánuje, schází však záměr autora, do jakého periodika bude MS směřován. V každém případě však bude zapotřebí zohlednit diskuzi vzniklou v průběhu oponentního řízení, která může napomoci k některým upřesněním v rukopisu. Z dalších plánů autora je na str. 85 uvedena drobná informace o připravovaném popisu nového taxonu *Rhodoabaetis* (Sroka et al. in prep.), vlastní citace tohoto záměru však chybí v seznamu literatury (zatímco práce „in prep.“ ostatních autorů uváděny jsou). Také závěr nese jakousi vizi extenzivní barcodové databáze, je však patrně chápána obecně a jistě ne jako autorův záměr, i když si nemyslím, že by tato databáze byla příliš životaschopná. Je možné, že další skryté informace o autorových plánech byly přehlédnuty, může proto autor nastínit své vědecké záměry?

Doporučení komisi pro obhajobu disertační práce Pavla Sroky z PřF Jihočeské univerzity

Hodnotím disertační práci Pavla Sroky: " Systematika jepic (Ephemeroptera) čeledi Baetidae " jako práci akceptující současné trendy, splňující podmínky pro zdárné ukončení doktorského studia, a proto ji **doporučuji přijmout k obhajobě.**

V Brně dne 28. 2. 2011


Prof. RNDr. Jaromír Vaňhara, CSc.

