

## Oponentský posudek na magisterskou práci Martiny Cinkové “Fylogenetické vztahy myxosporeí obojživelníků”

Předkládaná práce si klade poměrně značný počet cílů, jejichž počet je však spíše formulačním zonglováním, při troše dobré vůle by se daly definovat i mnohem úsporněji. Obecně však lze říct, že jde o “bezpečný” druh diplomových prací typu: máme nějaký materiál, který je třeba osekvenovat a udělat z něj „stroměčky”. To je v tomto případě dobře, jak pro školitele a studentku samotnou, ale i pro vědu. Martina totiž pracovala na doposud nepříliš probádané skupině parazitů, takže její výsledky rozšiřují pole poznání v daném oboru a měly by jít bez větších problémů opublikovat. Bez dalších okolků prozradím, že vytyčené cíle se z větší části splnit podařilo a že předkládaná práce je kvalitní a má všechny předpoklady být úspěšně obhájena.

Mezi jednoznačné klady řadím jasnou (a tradiční) strukturu, dobrou grafickou úpravu a dobrou úroveň češtiny (celkovou formulační obratnost a menší-než-obvyklé množství pravopisných chyb, pozor však na časté překlepy v latinských názvech!). Použitá metodika (alespoň ta část, kterou jsem schopen posoudit) je adekvátní a vesměs dobře aplikovaná. Autorka pracovala se značným množstvím literatury (i když velká část citovaných prací pochází z popisu druhů a zajímalo by mě, jestli je skutečně četla). Úvod je logicky členěný a informativní.

Mám li něco vytknout, byla by to určitě zbytečně nafouklá část metodiky. V dnešní době opravdu nevidím důvod, proč by měla autorka přepisovat do češtiny návody, uvedené v manuálech kitů, případně obecně známé postupy, jako např. vizualizace PCR produktů na gelu a podobně. Naopak, z textu není vůbec zřejmé, jaká nastavení autorka použila při selekci konzervativních úseků v programu Gblocks (předpokládám tedy, že to přednastavené?). Tím úspěšně eliminovala jediný důvod, proč takovýto program používat a znemožnila případným následníkům reprodukovatelnost jejího postupu. Zkoušela autorka i jiná nastavení, případně subjektivní výběr „bei očko”? Přitom to, jaké znaky do alignmentu zahrneme, má na výsledky fylogenetických analýz (případně podporu větvení) často zcela zásadní vliv. Mohu se také pouze domýšlet, proč se autorka rozhodla pro tři různé datasety (obrázky 9, 10 a 11), to mělo být v textu také jednoznačně uvedeno.

Obr. 9/strana 22 – autorka se rozhodla nově osekvenované kmeny (označené hvězdičkou) zařadit do rodu *Myxidium* a v diskuzi to zdůvodňuje tvarem spory. Přitom v úvodu uvádí, jak je tento znak u myxozoi nespolehlivý. Nejsem sice taxonom, ale z uvedeného stromu je jasné, že *Myxidium* je polyfyletický taxon a měl by být proto dále používán pouze pro typový druh, případně pro ostatní druhy, které jsou s tímto typovým druhem monofyletické. To že by měl někdo udělat revizi tohoto „rodu“ je jedna věc, ale rozhodně by se neměly popisovat další druhy, které, alespoň dle sekvence genu pro jadernou malou ribozomální podjednotku, se tak prostě jmenovat nemohou.

Obr. 10/strana 23 – zajímalo by mě, podle čeho autorka vybrala outgroup? Diskuze by mohla být poněkud zevrubnější, ale v zásadě nemám větších připomínek.

Z uvedeného doufám vyplývá, že s obhájením práce nemám nejmenší problém. Hodnotím ji stupněm **Výborně** a přeji autorce hodně štěstí do budoucna.

V Českých Budějovicích 21. 5. 2012

Aleš Horák



Oponentský posudek magisterské práce Martiny Cinkové: **Fylogenetické vztahy myxosporeí obojživelníků.**

Předložená magisterská práce se zabývá molekulární a morfologickou charakterizací myxosporeí obojživelníků a pokouší se o rekonstrukci jejich fylogenetických vztahů na základě analýzy sekvencí SSU rDNA.

Práce je psána velmi srozumitelným jazykem a obsahuje jen minimum překlepů nebo faktických chyb, zaujal a pobavil mě jen novotvar "polyštětinatci" použitý v první větě úvodu.

Úvod shrnuje dosavadní poznatky týkající se myxosporeí parazitujících zvolenou skupinu hostitelů a jejich příbuznými skupinami. Ačkoli nejsem specialista na Myxozoa a nedokážu plně posoudit zejména morfologickou charakteristiku popisovaných taxonů, úvod působí přehledně a fundovanost školitele je určitě víc než dostatečnou zárukou správnosti uvedených údajů. Zvolené metody studia jsou adekvátní cílům práce a i když ve výsledku nepůsobí 11 nově získaných sekvencí ohromujícím dojmem, množství vyšetřených hostitelů, úroveň zpracování morfologické dokumentace a obtížnost získávání molekulárních dat u dané skupiny parazitů svědčí o dobře odvedené práci.

V práci jen postrádám pokus o nadnesení obecnějších biologických či ekologických hypotéz týkajících se evoluce daných taxonů vzhledem k ostatním myxosporeím. Např. jaké jsou předpoklady pro hostitelské přeskoky mezi různými obratlovčími třídami a jejich vliv na vznik nových taxonů, nebo jak do stávajících biogeografických schémat rozšíření zapadají primární hostitelé (různé skupiny kroužkoců), atd. Osobně pokládám právě takovouto ekologickou interpretaci výsledků za nejatraktivnější součást fylogenetických studií. Chápu, že poznatků o myxosporeích u obojživelníků je dosud minimum a tak by se jednalo do značné míry o spekulace, ale práce by tak mohla aspoň naznačit jakými směry se ubírat dále. Lepší interpretaci výsledků by pomohlo vedle namapování hostitelského spektra na fylogeneze (obr. 9, 10 a 11) také namapování některých dalších biologických vlastností. Např. odlišnou lokalizaci parazitů v hostiteli je třeba vyhledat v tabulce vyšetřených jedinců a u sekvencí z GenBank není v práci k dispozici vůbec, přitom je tato vlastnost v diskuzi zmíněna a jde (aspoň pro mě) o zajímavý výsledek.

Otázky:

1. Jako základní metody fylogenetické rekonstrukce jsou v práci použity MP a ML ale ne Bayesiánská inference. Je to z nějakého specifického důvodu? Všechny metody mají samozřejmě svá pro a proti. Dále předpokládám, že výběr modelu pro ML byl proveden na základě předchozí analýzy (Modeltest, PAUP apod.), v práci ale chybí popis výběru modelu. Také u MP analýzy postrádám podrobnější popis nastavení heuristického vyhledávání (poměr transicí/transversí, způsob randomizace, počet replikací, atd.).
2. Jako neoborníka na myxosporea, ale člověka se zájmem o obojživelníky, mě zaujaly nálezy myxosporeí u importovaných jedinců. Čistě spekulativně, je možné aby se takto mohla myxosporea globálně šířit, přinejmenším mezi klimaticky podobnými pásmy (podobně jako u chytridiomykózy, kde ale jde o jednohostitelského parazita). Dále, tuší se něco o výskytu myxosporeí u obojživelníků v našich klimatických končinách a nestálo by za to se jimi také zabývat?

3. V práci byly použity jako genetický marker sekvence SSU rDNA, které jsou předpokládám u dané skupiny dobře zavedenou metodou. Uvažovala autorka o získání dalších markerů?

Drobné nedostatky k odstranění před plánovaným publikováním:

V seznamu použitých prumerů scházejí citace, není jasné, zda byly všechny primery převzaty a odkud, či zda byly některé vytvořeny nově.

Na obr. 10 působí zvláště zakořenění stejným rodem jako pro analyzované druhy ve zbytku stromu, asi by bylo lépe pro jistotu použít vzdálenější taxon, např. některý z analýzy na obr. 11.

Práci doporučuji k obhajobě a v závislosti na výkonu při prezentaci navrhuji hodnotit stupněm 1 nebo 2.

V Č. Budějovicích 24.05. 2012

Jan Štefka, PhD.

