

Oponentský posudek k dizertační práci Lubomíra Piálka „Species diversity and speciation mechanisms in *Crenicichla* (Neotropical cichlids)“

K tomu, aby se nový adept etabloval ve vědeckém prostředí, potřebuje splnit několik základních podmínek. Především musí mít schopnost pochopit a tvůrčím způsobem analyzovat problematiku vědního oboru, proniknout do metodických postupů a dokázat své výsledky interpretovat způsobem, který zaujme ostatní. Je tedy třeba mít talent a navíc se naučit řemeslo. Osobně se domnívám, že neméně důležité je nadšení pro řešenou problematiku. Jsem rád, že jsem mohl oponovat disertační práci, která splňuje výše uvedená kritéria, včetně nadšení pro studovanou problematiku. Mým úkolem je ptát se na detaily a kritizovat slabiny (což také za chvíli budu), ale je třeba vzít v úvahu, že cesta k samostatné vědecké práci je dlouhá a obhájením disertace teprve začíná. A vydat se na tuto cestu s takovými výstupy z dizertace musí být úžasné. Úvodem bych chtěl tudíž zdůraznit, že práci považuji za nesmírně zajímavou, s velice kvalitně zpracovanými daty a jejich interpretací.

Posuzovaná práce tvoří ucelený soubor článku popisující a analyzující diverzitu ryb rodu *Crenicichla* (česky hřebenáč). Jedná se o soubor 6 článků, z toho 4 již publikovaných, jednoho finálního manuskriptu a jednoho rukopisu ve velice předběžné verzi. Čtyři z těchto článků jsou popisy nových druhů, často s širší analýzou mezidruhových vztahů. Dva se týkají biogeografické a fylogenetické analýzy, zajisté tvoří nejsilnější stránku disertace a je důležité, že u těchto článků je Luboš prvním autorem. Soubor publikací je doplněn poměrně stručným úvodem a souhrnem. Celá práce je vypracována v anglickém jazyce.

K taxonomickým článkům nemám žádné zásadní připomínky. V textu je pár nepřesných formulací, ty se však netýkají vlastní taxonomické části a vzhledem k tomu, že se jedná o již publikovaný text nemá moc smysl se k nim vracet.

Snad bych poprosil o vysvětlení termínu „nearly endemic“ (dotaz 1).

Článek o fylogenezi rodu *Crenicichla* je velice dobře zpracován, s vynikajícím taxonomickým pokrytím vezmeme-li v úvahu, že se jedná o v Neotropích široce rozšířený a druhově velmi bohatý rod. Analýza je založena na kombinaci sekvencí tří mitochondriálních a jednoho jaderného lokusu a za standardních podmínek by tento výběr markerů stačil na detailní vysvětlení fylogeneze skupiny. Diskuze je vyčerpávající a umožňuje opravdu podrobnou interpretaci výsledků.

K textu bych měl několik relativně drobných dotazů.

2. Rod *Teleocichla* je v práci potvrzen jako ingroup rodu *Crenicichla*, což naznačovaly i dřívější studie. Co vás vede k tomu, že preferujete rozdělení rodu *Crenicichla* na několik rodů oproti variantě zahrnout druhy z rodu *Teleocichla* do rodu *Crenicichla*?

3. Na str. 70 zmiňuješ možný kontakt mezi povodími disperzí ryb přes horní úseky řek. V současnosti se ukazuje, že tento kontakt mezi povodími funguje v Africe a velice pravděpodobně přispěl k rekolonizacím cichlid ve velkých afrických jezerech, především Tanganice a Viktorině jezeře. Afrika prochází silnými tektonickými změnami a náklon geologických vrstev jednoduše způsobí remodelaci horních toků povodí, s kontaktem mezi

s procesy, které se odehrávají v afrických a středoamerických jezerech má opravdu zásadní dopad na celou rozsáhlou oblast studie ekologické speciace.

K textu tohoto článku mám velice hodně připomínek, současná verze je však zcela evidentně sepsaná narychlo před odevzdáním disertace a obsahuje spíše popisnou interpretaci výsledků, často opět do nejmenších detailů. Připomínky k textu nebudu jednotlivě uvádět, ale dovolím si shrnout pár bodů, kde je potřeba se nad interpretacemi (ale i hypotézami) ještě trochu zamyslet.

7. Dělení speciace na sympatrickou a alopatickou (str. 89-90) je ve světle teorie ekologické speciace zbytečné. Pokud jej opustíš, můžeš se zaměřit na důležitější věci.

8. Opět poznámka o zbarvení a pohlavním výběru (str. 109). Text v angličtině není úplně srozumitelný, ale zdá se mi, že se pokoušíš diskutovat skutečnost, že tvar hlavy a úst je u těchto ryb také pod tlakem pohlavního výběru (selektivní párování). Obávám se, že k tomu opravdu nemáš žádná data. Celý odstavec je hodně spekulativní a věci delší diskuze (sekvence diversifikačních událostí atd.).

9. Ve finálním článku budeš muset upustit o mnoha detailních jednotlivostí a opravdu se zaměřit na obecné trendy. V současné podobě by článek zaujal jen ty, kteří se zajímají o daný taxon či biogeografickou oblast. Ambice této studie však musí být úplně někde jinde.

Jedna věc, která mi na dizertaci chybí (ale to je obecný problém snad všech dizertací), je trochu více nadhledu a diskuse s radiacemi u jiných taxonů. Tato výtku se týká především obecného úvodu a souhrnu, které k tomu vybízí. Ne, že by srovnání s jinými taxony úplně chybělo, ale rád bych viděl diskusi s procesy, které hrají roli například u jiných taxonů než cichlid. Srovnat *Crenicichly* s africkými cichlidami, ale také s koljuškami a coregonidy a s ostrovními diverzifikacemi jako je případ karibských anolisů, galapážských pěnkavek (vliv potravy, habitatu, pohlavního výběru, datování a sekvence událostí, proč někdy dojde ke speciaci a jindy se jedná o labilní situace atd.). Každopádně doporučuji tento širší rámec při sepisování článku z RAD sekvenování.

Závěrem musím konstatovat, že předložená práce Lubomíra Piálka naprosto jednoznačně splňuje kritéria kladená na dizertační práci a doporučuji ji k obhajobě.

V Brně 11. 10. 2013,



Doc. RNDr. Martin Reichard, PhD.

Posudek na disertační práci

Species diversity and speciation mechanisms in *Crenicichla* (Neotropical cichlids)

Autor: Lubomír Piálek

Oponent: Josef Bryja

Disertační práce Lubomíra Piálka se skládá především z šesti vědeckých prací, z nichž čtyři již byly publikovány v mezinárodních časopisech a další dva jsou k publikaci přichystány. Autor na úctyhodném materiálu provedl detailní revizi fylogenetických vztahů rodu *Crenicichla* (Paper IV) a jednu linii tohoto rodu pak využil k detailní fylogenomické analýze speciálních vztahů (Paper VI), což je dle mého názoru nejhodnotnější část disertace z hlediska obecné evoluční biologie. Při své detailní práci na rodu *Crenicichla* tak byla objevena i řada nových potenciálních druhů, z nichž čtyři nové popisy jsou zařazeny do disertační práce (Papers I, II, V - u jednoho z nich je L. Piálek prvním autorem). Částečně nelogicky je zařazen i popis nového druhu z rodu *Australoheros* (Paper III). Tyto výsledky jsou doplněny až příliš krátkým obecným úvodem a souhrnem získaných výsledků na 6 stranách. Práce je zcela jistě velmi kvalitním dílem, které se stane dalším přelomem v pochopení evoluce jihoamerických cichlid. Jako oponent bych však neměl pouze chválit a proto se spíše zaměřím na problematické části, které mohly být třeba zpracovány i lépe.

Na většině českých přírodovědeckých fakult se dnes stalo uznávaným trendem spojit vyprodukované manuskripty (často i velmi nesourodé), doplnit je krátkým úvodem a vytvořit tak disertační práci. Přestože důraz na publikované výsledky je správný, tak by dle mého názoru měla disertace tvořit ucelené dílo na určité téma. Většina prací této disertace spolu jednoznačně souvisí, a proto je škoda, že již nebyl čas zasadit je do společného kontextu. Úvod je sepsán na čtyřech stranách strohému textu a jsou v něm odkazy pouze na dvě práce, které byly zařazeny do disertace. Zcela jistě by této části prospělo, kdyby zde třeba byla zobrazena nějaká mapa celé studované oblasti s vyznačením bariér, o kterých se zde mluví, případně nějak graficky znázorněna dosavadní znalost o druhové diverzitě atd. V každé publikaci sice nějaká mapa s říční sítí je, nicméně dalo mně dost problém je nějak poskládat dohromady. Chybí tady také nějaká část týkající se (obecně) použitých metod, tj. od morfologie až po "next-generation sequencing". Protože se celá disertace týká delimitace druhů, tak zde taky mohla být zařazena obecná kapitola o současných druhových konceptech (alespoň phylogenetic vs. morphological vs. biological species concept). Cíle práce jsou definovány na třech řádcích, přičemž každý z nich mohl být také více rozveden. Závěrečné shrnutí opakuje nejdůležitější výsledky, nicméně opět nejsou příliš zasazeny do obecnějšího kontextu. Pro mne překvapivě se v této části objevují některé výsledky poprvé (např. ddRADseq u *C. mandelburgeri* komplexu a jeho srovnání s mtDNA fylogenezí). Chápu, že je zajímavé je v práci uvést, protože vhodně doplňují výsledky získané u *C. missioneira* komplexu, nicméně daleko vhodnější by bylo je buď začlenit do Paper VI nebo je uvést jako samostatný manuskript do hlavní části disertace (který by mimo jiné obsahoval i zajímavá zjištění o potenciálním hybridním původu některých taxonů atd.).

Detailnější připomínky jsem tužkou vyznačil přímo v textu disertace, ale protože některé z nich se týkají již publikovaných článků, které stejně nepůjde nijak doplnit, tak se k nim dále nebudu vyjadřovat. K obecnější diskuzi při obhajobě mám však následující komentáře či dotazy:

1) K datování divergencí (Paper IV) byla použita mutační rychlost 2%/Myr (namísto 1%/Myr, které se používá u ostatních cichlid). Jak moc jsou tyto odhady věrohodné ve světle současných poznatků o

odhadech divergencí u blízce příbuzných taxonů? Přece jenom mně přijde ta divergence 6-8 mya u morfologicky téměř identických ryb (tj. *C. missioneira* complex vs. ostatní linie *C. lacustris* group) dost stará. Odhady divergence navíc nejsou uvedeny v Results, ale objevují se až v Discussion.

2) V Paper IV, part 4.2.1, navrhuji autoři rozdělit rod *Crenicichla* na několik rodů. Jaká kritéria se využívají při definici nových rodů u cichlid? Existuje vůbec něco takového?

3) Poslední manuskript (Paper VI) analyzuje fylogenomická data a přináší evidenci pro sympatrickou speciaci, která se opakovaně objevuje v různých přítocích řeky Uruguay. Přestože analyzovaný dataset je excelentní a výsledky vypadají velmi přesvědčivě, tak mám několik dotazů:

(a) je možno prokázat, že srovnávané SNPs byly skutečně homologní? (tato kritika se dnes u metody RADseq začíná objevovat čím dál častěji, když si představíme, kolik obsahuje genom eukaryot nejrůznějších duplikací a repeticí)

(b) v práci neexistuje žádná část týkající se morfologie jedinců. Jak byly jednotlivé morfotypy určovány? Opravdu neexistovaly žádné přechodné formy mezi jednotlivými základními typy? Např. na Fig. S2 mně *missioneira* z Yaboti a ze Soberbio nepřijdou moc podobné.

(c) v kapitole týkající se vzorkování by bylo vhodné uvést více detailů o distribuci jednotlivých jedinců v mikrohabitatu dané řeky. Umím si představit, že pattern, který je zde vydáván za paralelní sympatrickou speciaci, by mohl být pozorován i v alternativních situacích. Např. by se mohlo jednat o fenotypovou plasticitu, kdy existuje silná strukturovanost mikrohabitatů a každý mikrohabitat je obýván blízce příbuznými jedinci (tj. v daném mikrohabitatu byla vzorkována např. jenom jedna rodina, jejíž zástupci se pak při analýze ddRADseq dat klastrují spolu).


(d) existují nějaká data o hybridizaci mezi jednotlivými morfotypy z akvarijních chovů? Jsou zde nějaké reprodukční bariéry? Pokud ne, tak jak vypadají potenciální hybridy?

(e) pokud se skutečně jedná o opakovanou sympatrickou speciaci, která se odráží geneticky fixovanými adaptacemi, tak by bylo určitě dobré zjistit, jestli jsou pokaždé ovlivněny stejné části genomu - je možné tuto informaci z RADseq dat nějak vytáhnout? Nebo se pořád ještě jedná o málo detailní genomickou informaci?

(f) poslední část diskuze týkající se "Conservation implications" příliš nezapadá do hlavní náplně této práce (která by mohla směřovat např. do časopisu typu *Evolution*). Pro danou disertaci by bylo vhodnější nějaké ochranné implikace vložit třeba do závěrečného shrnutí celé disertace.

Závěr: I přes tyto nejasnosti a náměty na další diskuzi na mne práce celkově působí velmi dobrým dojmem. Doktorand přesvědčivě zkombinoval precizní přístup (nutný k taxonomickým závěrům) s velmi inovativními technologiemi (ddRADseq) a vznikla tak práce, jejíž jednotlivé části se stanou významnou součástí mozaiky k pochopení evoluce biodiverzity (nejen jihoamerických cichlid). Práce jednoznačně prokázala schopnost doktoranda vykonávat kvalitní vědecký výzkum, a proto ji bez zaváhání **doporučuji k obhajobě.**

Ve Studenci 10.10. 2013

Doc. Mgr. et Mgr.  Josef Bryja, Ph.D.