

Oponentský posudek – Krásová: Phylogeny of Grey-bellied Pygmy Mouse (*Mus triton*) complex

Diplomová práce Bc. Jarmily Krásové se zabývá fylogenezí druhového komplexu africké myši šedobřiché (*Mus triton*), a to studiem materiálu nasbíraného *in-situ* v období 2005-2013 a z menší části doplněného o sekvence z databází. Na základě fylogenetických analýz jednoho mitochondriálního a dvou jaderných markerů odhaluje genetickou strukturu v uvedeném komplexu, interpretuje ji v termínech historické biogeografie a zabývá se taxonomickými důsledky uvedených zjištění. Práce obsahuje 48 stran včetně příloh a je sepsána formou manuskriptu v anglickém jazyce.

Z formálního hlediska obsahuje práce některé nedostatky, např. odkazy na obrázky nejsou seřazeny vzestupně, odkaz na obr. 2 na str. 11 obsahuje chybovou hlášku, literární reference v druhém řádku podkapitoly Taxonomic implications... se omezuje na tři křížky atd. Popis tabulky 6 a zčásti tab. 2 láká čtenáře na informace, které jim nakonec tabulka nenabídne.

Úvod je vcelku informativní, alespoň z hlediska popisu studovaných zvířat. Uvítal bych podrobnější geografické představení oblasti, které by vytvořilo základ pro snažší sledování diskuse. K metodické části tak jak je sepsána nemám závažnější výhrady, k aplikaci popsaných postupů již ano. Oba jaderné markery jsou analyzovány samostatně a výsledkem jsou tak nepřekvapivě z velké části nerozlišené stromy, jejichž nepřesná interpretace navíc vede ke zbytečnému oslabení získaných výsledků. U stromu vzniklého z kombinovaného datasetu (mit + nuc) je nešťastně zvoleno vyjádření podpory jednotlivých linií, kdy jsou hodnoty obou indexů (ML bootstrap a bayesovská PP) členěny do intervalů podle stejných nominálních hodnot, přestože se limity, od kterých můžeme linii považovat za podpořenou u obou indexů diametrálně liší. Místo zjednodušené grafické interpretace bych proto doporučoval číselné vyjádření obou podpor. Chybí též vyjádření autorky, které uzly vlastně považuje za podpořené. Podobně u cyt b stromu se hovoří o podpořených liniích s PP (a zároveň bootstrapem) 75-99 %, přestože se obvykle za nevyřešené považují již uzly s PP < 95 %. Analýza sekvencí cytochromu je dále doplněna o rekonstrukci haplotypové sítě prováděnou dvěma různými programy paralelně. Tyto analýzy mi při dané úrovni rozlišení fylogenetického stromu a studované časové škále přijdou nadbytečné, a ani autorka s výsledky v diskusi dále nepracuje. Grafickou dokumentaci fylogenetických výsledků tak tvoří celkem 5 obrázků stromů (včetně toho s molekulárními hodinami) a dvě haplotypové sítě (plus nějaké mapy) s malou mírou vyjádřené informace, při budoucí tvorbě rukopisu bude třeba zkomprimovat vše do jednoho (max. dvou) obrázku, případně přesunout do příloh. Doporučoval bych také vyzkoušet různé členění (partitioning) datasetu při bayesovské analýze, např. na jednotlivé pozice kodónu jednotlivých genů a jejich sdružování dle modelů např.

pomocí programu PartitionFinder; je možné, že podpora některých linií (např. C vs. D) touto optimalizací vzroste.

Diskuse začíná podkapitolou o inkongruenci (konfliktu) mezi výsledky vzešlými z mitochondriální a jaderných analýz, která je věcně správná; domnívám se ale že má jednu vadu, totiž že prezentované výsledky žádný konflikt nevykazují. Jinak je ale Diskuse určitě nejzdařilejší částí celé práce, což velmi oceňuji. Autorka se v ní zabývá hlavně časovým harmonogramem kladogeneze studovaného komplexu, kterou uvádí do kontextu historického vývoje kontinentu. Snad jen výrok o možné souvislosti mezi klimatickými cykly a štěpením uvnitř linie D mi přijde příliš silný a na základě měřítka příslušného obrázku s výsledky Beast k němu nejsem schopen zaujmout stanovisko. Jak už jsem naznačil, k uvedené pasáži bych velmi uvítal velkou mapu zobrazující významné geografické fenomény (o kterých je v textu řeč), vyvozované směry šíření linií s časovými údaji, vybrané ekologické faktory atd.; jako člověk neznalý "černého kontinentu" nejsem schopen podávané informace pojmout v textové podobě.

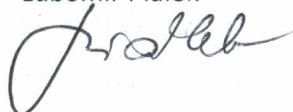
Od prezentované verze, která byla pravděpodobně dokončována v jisté časové tísní, bude ještě dlouhá cesta ke konečné verzi rukopisu; zvláště fylogenetickou část bude třeba zásadně revidovat. Vzhledem k hodnotnému sbírkovému materiálu a zajímavým fylogenetickým i taxonomickým závěrům si ale text tuto práci zcela jistě zaslouží. I přes uvedené nedostatky hodnotím příspěvek autorky k uvedené studii jednoznačně kladně a domnívám se, že uvedená práce splňuje požadavky kladené na diplomové práce na PŘF JU. Doporučuji ji proto k obhajobě, a výsledné hodnocení vyjádřím na základě jejího průběhu.

Na autorku mám následující dotazy:

- 1) Dle tabulky v příloze 1 jsou sekvence zástupců všech evolučních linií *M. triton* mimo podlinie D3 přístupné ve veřejných databázích (byť většinou počet vzorkovaných jedinců je podstatně nižší ve srovnání s vašimi sbírkami); konkurenční týmy tak mají přístup ke kvalitativně obdobnému genetickému materiálu. V čem se tedy výsledky práce zásadně liší od závěrů jiných autorů a co konkrétně autorka považuje za největší přínos?
- 2) S autorkou se zřejmě ne zcela shoduji ve vnímání konfliktu mezi výsledky mitochondriální a jaderných analýz. Mohla by autorka na obrázcích kladogramů demonstrovat, kolik haplotypů zaujímá inkongruentní pozice a zda by tento nesoulad vysvětlovala možnou introgresí (viz Diskuse)?

V Českých Budějovicích dne 13.1. 2015

Lubomír Piálek



Posudek oponenta magisterské diplomové práce

Magisterská diplomová práce **Jarmily Krásové** s názvem „**Phylogeny of Grey-bellied Pygmy Mouse (*Mus triton*) complex**“ má 48 stran.

Práce byla vhodně zadána neb alfa taxonomie respektive fylogeneze na úrovni druhů, poddruhů a populací afrických hlodavců včetně mnoha myšovitých je studována až v posledních letech a tedy téměř každý výsledek dosažený v této oblasti může být potenciálně nový a dokonce i objevný. Navíc práce tohoto typu mají jasnou metodiku a lze je tedy dělat při dostatku materiálu a financí dle standardních postupů. To je pro účely diplomových prací, které mají studenta naučit provést jednoduchý vědecký projekt v plném rozsahu a správně, nadmíru výhodné.

Tyto výhody se ovšem snadno stávají noční můrou pro oponenta. Práci tohoto druhu lze vytknout kromě formálních nedostatků jen (1) hrubé nedodržení zavedených postupů při získávání sekvencí (ale kvalitu primárních sekvenčních výstupů a případné záměny vzorků v laboratoři nemá oponent jak ověřit) či výpočtech; (2) Nevhodnou či aktuálně nemoderní volbu postupů (ale sofistikovanost používaných výpočtů obvykle vážně převyšuje kvantitu i kvalitu hodnocených datových souborů a tak je vysoce pravděpodobné, že výsledky různých metod se budou v hlavních závěrech bez ohledu na jejich aktuální prestiž ve vědecké obci shodovat, pokud je ovšem datový soubor v pořádku); (3) Nedostatečný taxon sampling (ale Afrika je divoká a nedostupná) a dále malý počet genů či délku získaných sekvencí (ale to záleží dnes spíše na finančních možnostech laboratoře než na studentovi samotném). Shrnutu, oponent to má těžké.

V daném konkrétním případě je práce sepsána anglicky, stylem aspirujícím na formu rukopisu publikace a to vcelku zdařile. Oceňuji, že jsou jasně popsány laboratorní i výpočetní postupy, primery jsou hezky v tabulce etc. A výsledky jsou jasné, vhodně interpretované a dávající smysl.

Hrubé nedodržení zavedených postupů jsem neodhalil. Jak výše již řečeno nepovažuji nepovažuji volbu výpočetních metod za až tak podstatnou uvážíme-li, že se pohybujeme v divergencích starých řádově jednotlivé milióny let (< 20 miliónů) tj. v časovém pásmu kdy se výsledky různých metod (NJ, MP, ML, BA) při hodnocení mitochondriálních sekvencí docela shodují.

Sampling je s ohledem na rozlohu areálu zkoumaného druhu jistě nedostatečný, ale nikdo jiný asi nemá k dispozici rozsáhlejší materiál. Z mého pohledu člověka znalého obtíží spojených s odchycem každé myši v podmínkách Afriky je úctyhodný. Navíc velikost

materiálu je věcí těch kdo ty myši chytali a nejsem si jist, kolik vzorků chytila sama diplomantka (velmi by mne zajímalo, zda a kolik sama k materiálu přispěla – prosím o odpověď!).

Počet genů a jejich délka pro dané účely postačují (i když by pravý molekulární vědec, na rozdíl od fylogenetika, chtěl vždy o něco víc než je reálně k dispozici. Nemám pocit, že by prodlužování sekvencí a počtu genů výrazně k něčemu přispělo.

K práci mám následující připomínky a otázky týkající se především toho skutečně důležitého, tedy toho co v práci není explicitně napsáno:

(1) Velmi by mne zajímalo, nakolik jsou výsledky invariantní vzhledem k rozdílnému souboru outgroupů. Především, zda byly výpočty (BA) provedeny s několika sety outgroupů a jak se výsledky vzájemně lišily. Takové alternativní analýzy jsou pracné (dnes hlavně pro počítač), ale taková invariance je pro uvěřitelnost výsledků podstatná.

(2) Totéž mne zajímá o to více v případě časových odhadů divergencí (BEAST), zde navíc přibývá otázka, zda vůbec máme v rámci fylogeneze zkoumané skupiny relevantní paleontologické datace, zejména na africkém kontinentu včetně datování imigraci z Asie. Výsledky odhadů vypadají překvapivě vcelku rozumně, ač nelze zastřít, že tradičně celkem široké konfidenční odhady poskytují značnou volnost pro narativitu při vytváření evolučních a ekologických scénářů. Jak jsou ale důvěryhodné a imunní vůči změnám zadávaných parametrů?

(3) Které z podpořených kladů jsou patrně druhy a proč? A co možná introgrese? Chtěl bych spíše úvahu či interpretaci i nad rámec objektivně vykazatelného.

Závěrem konstatuji, že hodnocenou diplomovou práci bez váhání doporučuji k obhajobě a kladnému hodnocení.

V Praze dne 4.ledna 2015

Daniel Frynta

