

Posudek diplomové práce Lukáše Bešty „*Fylogeneze a fylogeografie modrásků rodu *Cacyreus* jako nástroj hledání původu invazního *C. marshalli*“.*

Diplomová práce se věnuje zejména fylogenezi afrických modrásků rodu *Cacyreus* a *Harpencyreus*, a (v již menší míře) původu zavlečeného druhu *C. marshalli* do Evropy. Výsledky práce jsou postaveny na kombinaci molekulárních (využití mitochondriálních i nukleárních markerů) a morfologických metod (rozdíly kopulačních orgánů), a ačkoli se Lukáš sám ve větší míře nepodílel na sběru vzorků, jeho zásluha při zpracování nasbíraného materiálu a následných analýzách je nesporná.

Celkově jde o celkem povedenou diplomku správně strukturovanou do jednotlivých kapitol a s jasně stanovenými cíli. Data jsou adekvátně zpracována a výsledky přehledně prezentovány. Text je v celé diplomové práci srozumitelný s minimem chyb nebo překlepů, navíc doplněn celou řadou detailních fotografií studovaných druhů motýlů (soudím na vysoký zájem Lukáše o toto téma). Jediné, co bych diplomové práci výrazněji vytknul, je lepší zpracování diskuze (viz níže). Práci doporučuji k obhajobě, ale zejména kvůli méně podařené diskuzi bych hodnotil „velmi dobře“. Několik otázek k obhajobě:

- 1) Fylogenetické analýzy jsou postaveny na jednom mitochondriálním a dvou jaderných markerech. Na základě stanovení nejlepšího substitučního modelu hádám, že vše bylo sjednoceno do jednoho alignmentu a nejlepší substituční model byl následně vybrán pro každou pozici v rámci každého ze tří genů zvlášť. Zkoušeli jste kromě jedné společné fylogeneze též fylogenezi oddělenou (tedy zvlášť pro mitochondriální a zvlášť pro jaderné geny)? Jaké rozdíly lze ve výsledcích očekávat?
- 2) Ve výsledcích mi chybí nějaké obecnější shrnutí informací o získaných sekvencích z jednotlivých genů. Např. jak dlouhé byly, kolik bylo zaznamenáno haplotypů, jak variabilní byly jednotlivé geny, byly sekvenovány z jedné nebo obou stran, jaká byla délka sekvencí stažených z GenBanku, apod. (nějaké informace lze postupně vyčíst z textu nebo jsou součástí Přílohy 3, ale pro lepší a rychlejší přehled o použitých markerech bych zařadil někam na začátek výsledků).
- 3) Délka použitých sekvencí pro COI není příliš velká (~350-500 bp). Při použití primerů LCO/HCO bych očekával produkty mnohem delší (někde okolo 700 bp). Jak a proč k tomu došlo?
- 4) Je celkem zajímavé, že genetické rozdíly mezi některými druhy (např. *C. marshalli*/*C. dicksoni*; *C. audeoudi*/*C. virilis*) jsou velmi malé. Druhy se liší jen o 2-3 mutace. U druhu *C. virilis* je dokonce vnitrodruhová variabilita vyšší než mezidruhová vzhledem k *C. audeoudi*. Zároveň však autor uvádí, že morfologické rozdíly v kopulačních orgánech opravňují jejich zařazení do odlišných druhů. Jak by bylo možné toto vysvětlit a je takto nízká gen. variabilita u modrásků běžná?
- 5) „Při porovnání samčích kopulačních orgánů (Obr. 34, 35, 36) studovaných druhů jsou patrné signifikantní rozdíly...“. Nikde jsem však nenašel žádnou kvantifikaci morfologických znaků. Jaké signifikantní rozdíly má Lukáš na mysli? Jak vlastně byly morfologické znaky porovnávány?
- 6) „Analýzy dále ukázaly, že *C. marshalli* vyskytující se v Evropě patří do stejné větve jako vzorky z Jihoafrické republiky“. S tím samozřejmě souhlasím, otázka je, zda mohlo vyjít i něco jiného, když byly evropské vzorky *C. marshalli* porovnávány pouze s těmi jihoafrickými.
- 7) „Z obrázku 30 je patrné, že celá Evropská populace pochází z haplotypu H5 z Jihoafrické republiky“. Toto asi není zcela přesná formulace. Evropský haplotyp H4 klidně může pocházet z haplotypu H4 v JAR, kde akorát nebyl v rámci osmi sekvenovaných jedinců nalezen.

Diskuze je bohužel místy nepřesná a není ani příliš obsáhlá – v podstatě jen lehce rozšiřuje to, co již bylo řečeno ve výsledcích. Například část o introdukovaném *C. marshalli* by jistě šla oddiskutovat zajímavěji než na pouhých pěti řádcích (když už je toto téma i součástí nadpisu). Pár dalších bodů k diskuzi:

- 8) „...*C. palemon palemon* a jeho poddruh *C. palemon ghimirra* se geneticky již poměrně výrazně odlišují...“. Co znamená „poměrně výrazně“? Možná by stálo za to lépe podpořit autorův názor, že jde o dva samostatné druhy a uvést více argumentů vzhledem k použitým markerům, historickým souvislostem apod.
- 9) „Z analýz vyplývá, že rod *Harpentryreus* je sesterskou skupinou *C. palemon palemon*...“. Jenže podpora této větve je velmi nízká, tedy ne zcela relevantní. To co lze z fylogenetických analýz (ML+Bayes) vyčíst je, že rod *Cacyreus* není monofyletický a zahrnuje v sobě ještě rod *Harpentryreus*, jehož postavení je vzhledem k *C. palemon palemon* / *C. palemon ghimirra* zatím spíše nejasné.
- 10) „...druh *C. audeoudi* je parafyletický...“. Z obou fylogenetických stromů vyplývá, že *C. audeoudi* je monofyletický, parafyletický je naopak *C. virilis*.
- 11) „Toto tvrzení rovněž potvrzuje haplotypová síť (Obr. 31), ze které je patrné, že *C. audeoudi* vytváří vlastní haplotypovou skupinu G5 tvořenou dvěma haplotypy (H10 a H11).“ Podle čeho byly odlišeny jednotlivé „haplotypové skupiny“, když se na jejich základě stanovuje, jestli se již jedná o nový druh či ne?

České Budějovice, 30/06/2020

Lukáš Drag