



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.

Parazitologický ústav

adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice

telefon: +420 387 775 403

fax: +420 385 310 388

IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344

číslo účtu: 5527231/0710, ČNB České Budějovice

www.paru.cas.cz | e-mail: paru@paru.cas.cz

Oponentský posudek diplomové práce

Autor: Bc. Lucie Uhrová

Název: Molecular phylogeny of Neartic proteocephalids of the *Proteocephalus*-aggregate (Cestoda: Onchoproteocephalidea)

Magisterská práce se zabývá rozšířením znalostí o bližších fylogenetických vztazích proteocefalidních tasemnic vyskytujících se v Severní Americe, a to aplikací standardně využívaných (28S) a nových (cox1) molekulárních markerů. Práce je psána v anglickém jazyce s minimem překlepů a gramatických chyb, což obojí oceňuji. Na druhou stranu bych uvítala, kdyby byla i stejná pozornost věnována úpravě obrázků a jejich zpracování.

V úvodu se dozvíme velice podrobně o morfologii, životním cyklu a spektru hostitelů této skupiny tasemnic. Ale práce již nezmiňuje, zda podobný přístup, rozšíření dat a přidání nového markeru, byl již někdy uplatněn a jakým způsobem přispěl k objasnění mezidruhových vztahů, buď u tasemnic nebo helmintů obecně. V tomto směru úvod moc nekoresponduje se zadaným tématem práce a navazujícími kapitolami. Cíle práce jsou sice vytyčeny, ale bez předchozího kontextu není úplně jasné, co vedlo k jejich stanovení.

Otázky:

- Existují tedy nějaké studie, kdy rozšíření datasetu o další gen/geny výrazně přispělo k objasnění fylogenetických vztahů ploštěnců/tasemnic?
- Co tedy vedlo k využití mitochondriálních markerů?

Část „Material and Methods“ popisuje použité laboratorní a fylogenetické přístupy k získání dat a jejich následnému zpracování. K získání nových dat byly použity standardní metody – DNA izolace, PCR, sekvenace amplifikovaných produktů, alignování sekvencí, nalezení vhodného modelu a fylogenetická analýza. V rámci studie byly navrženy i nové primery na amplifikaci celé podjednotky cytochrom oxidázy 1 (cox1). Co vidím jako jeden z nedostatků práce je, že byla zpracována pouze nukleotidová data pro všechny protein-kódující geny a chybí i podrobnější způsob úpravy alignmentů tohoto typu data. A v této rovině tedy ani moc nesouhlasím s přístupem pro výběr vhodných substitučních modelů pro tento typ dat, kde by měly být zohledněny všechny čtecí rámce. Jsem si plně vědoma, že velikost datasetu je velice limitující, ale v rámci transferu znalostí by byl i tento krok neméně edukativní. Také bych ocenila, kdyby byla provedena počáteční analýza



s rozšířeným datasetem např. zahrnutí sekvencí i z neotropické oblasti, i když by měla být pouze pro jeden gen.

Otázky:

- Jakým způsobem byl tedy upraven alignment pro *cox1* a další protein kódující geny?
- Jaký další program by studentka použila pro nalezení všech vhodných modelů pro protein-kódující geny?
- Použila studentka i jinou metodu výpočtu fylogenetických vztahů?

Kapitola „Results“ je členěna podle typů zpracovaných data a popisu získaných výsledků pro daný dataset. Pro celou práci bylo nově získáno celkem 14 sekvencí 28S a 14 kompletních sekvencí *cox1*. Bohužel, ani jedna z prezentovaných analýz zásadně nepřispěla k prohloubení znalostí o mezidruhových vztazích této skupiny, a to díky nízkým podporám u jednotlivých druhů, a to i v případě dat získaných z mitochondriálních genomů. Je s podivem, že v konkatenovaném datasetu byla ponechána i data, pro která byl získán pouze jeden marker např. *P. midoriensis*, *P. macrocephalus*, *P. filicollis* nebo sekvence z outgroupu *Paraproteocephalus parasiluri*. Dataset z *cox1* sekvencí navíc obsahoval asi 1/3 sekvencí, které mají třetinovou délku (~500bp) oproti nově získaným datům (~1500bp) a v tomto případě bych řekla, že uvádění počtu informativních a neinformativních pozic je poněkud zavádějící.

Otázky:

- Čím si studentka vysvětluje, že ani při zpracování konkatenovaného datasetu nedošlo k výraznému vylepšení podpor?
- Proč nebyl *cox1* dataset zpracován pro analýzy i ve zkrácené verzi (~500bp)?

Část „Discussion“ porovnává získané informace s již publikovanými poznatky o fylogenezi proteocefalidních tasemnic z Neartické oblasti. Výsledky všech analýz jsou značně konfliktní až na opakované seskupení několika druhů, a to i přes nižší podpory větví. Podobně jako v části „Introduction“ chybí širší rozvedení tematiky o použití multigenové analýzy při řešení taxonomie u helmintů, tasemnic nebo příbuzných skupin a jejich srovnání s dosaženými výsledky. Což práci zbytečně ochuzuje o další rozměr a případné nápady a závěry.

Otázky:

- Vzala studentka v úvahu přítomnost kryptických druhů v případě existence více linií u druhu *P. longicollis*?
- Proč si studentka myslí, že rozšířením datasetu a přidáním dalších sekvencí by se mohla fylogeneze této skupiny vyřešit?
- Co je tedy v podobných situacích důležitějším aspektem – rozšiřování datasetu o nové vzorky nebo geny/informace?



- Jaké vhodné geny by studentka při současných znalostech použila pro hodnocení vnitrodruhových vztahů u druhů *P. macrocephalus*, *P. longicollis* a *P. torulosus*?

Předložená studie je svým zpracováním sice trochu zmatečná, ale nabízí několik nových výsledků prohlubujících poznání o nejednoznačné fylogenezi skupiny proteocefalidních tasemnic z oblasti Severní Ameriky. Pozitivní výstupem práce jsou i nově navržené primery pro amplifikaci a sekvenaci celé podjednotky *cox1*. Autorka v průběhu magisterského studia prokázala velkou snahu zvládnout různé aspekty vědecké činnosti – práce v laboratoři a zpracovávání sekvenčními daty pro fylogenetické analýzy. Osobně si myslím, že výtky zmíněné pro kapitulu „Material and Methods“ by měly jít na vrub obou školitelů než studentce. I přes uvedenou kritiku se domnívám, že práce splňuje všechny podmínky kladené na diplomovou práci, a tedy ji doporučuji k obhajobě, přičemž výsledné hodnocení si ponechávám až po obhajobě.

V Č. Budějovicích, 2. ledna 2020

RNDr. Dagmar Jirsová, Ph.D.