

Oponentský posudek magisterské práce Bc. Dany Hanzalové Phylogeny of Brimstone butterflies (genus *Gonepteryx*): The evolution of colour pattern in UV spectrum and geographical area

Oponent: RNDr. Pavel Pech, Ph.D.

Práce je psaná anglicky, stylem rukopisu připraveného či připravovaného k opublikování. Je logicky a přehledně členěna, bez formálních chyb, obsahově kvalitní. Nemí důvod proč by opublikována být neměla.

Mám jen velmi málo komentářů: Kanárské ostrovy a Madeira by pro účely biogeografické analýzy mohly a patrně měly být klasifikovány zvlášť. Geografická poloha Madeiry totiž umožňuje její kolonizaci z Kan. ostrovů, Pyrenejského poloostrova nebo severní Afriky, Kanárské ostrovy mohly být kolonizovány buď před Madeiru nebo také přímo z Afriky - opakované a vzájemně nezávislé kolonizace Madeiry by možná mohly vysvětlit ne úplně jasný vztah mezi *G. maderensis* a západomediterránními populacemi *G. cleopatra* a nejasný druhový statut prvního z nich.

Nenašel jsem, jaké vzorky vlastně pocházely z Kanárských ostrovů - patrně nebyly analyzovány?

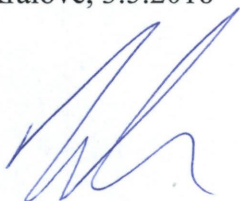
Na obrázcích 4. a 5. je patrně chyba, pod číslem vzorku DH 240 by měl být snad druh *G. cleopatra*.

Nejsem si jist, zda UV reflektance na zadních křídlech je nutně monofyletická - s podobnou pravděpodobností mohl mít předek střední reflektanci na předních křídlech a nulovou na zadních, tam pak mohla vzniknout několikrát nezávisle.

Trochu mi chybí pojednání o významu UV reflektance pro studované motýly. Přestože je práce pravděpodobně publikovatelná i bez toho, pouze s odkazy na příslušnou literaturu, bylo by vhodné význam vysvětlit alespoň stručně. I proto, že jedním z cílů magisterské práce by mělo být prokázání schopnosti studenta dát do souvislosti vlastní výsledky s literaturou - většinou to je obtížnější než vykonání práce samotné; byť nepochybuji, že toho studentka schopna je. Posouzení významu této poznámky ponechávám na hodnotící komisi. Celkově práce splňuje požadavky na magisterské práce na PřF JU, doporučuji ji k obhajobě a navrhuji hodnotit stupněm výborně.

V Hradci Králové, 3.5.2018

Pavel Pech



Bc. et Bc. Dana Hanzalová
2018

„Phylogeny of Brimstone butterflies (genus *Gonepteryx*): the evolution of colour pattern in UV spectrum and geographical area
Diplomová práce

Posudek oponenta

Předložená diplomová práce má formu rukopisu v anglickém jazyce. Hlavními cíli práce byla rekonstrukce fylogeneze rodu s použitím pokud možno kompletního druhového samplingu a dále použít tuto fylogenezi k rekonstrukci historické bigeografie skupiny a evoluce UV vzorců zbarvení. Hlavní hypotézou bylo, že u druhů žijících v sympatrii bude větší rozrůzněnost UV vzorců zbarvení.

Metody

97 samples from 12 species (out of 16).

Metody a popis rekonstrukce fylogeneze je v pořádku a jsou zcela adekvátní. Výhrady mám ale k popisu metodiky (a nebo metodice samotné) u kalibrace datování, popisu biogeografických analýz a analýze UV vzorců zbarvení.

Datování používá poměrně (velmi) staré uzly (55, 38, 35 Ma), které jsou tak asi za hranicemi možností 487 bp úseku COI a datování je tak (asi) determinováno především Wingless (kde předpokládám, že je konzervativnější). Byla testována případná saturace (a její míra) COI u vaší skupiny?

U **biogeografických analýz** je psáno doslova „The reconstruction of ancestral area was computed in RASP ... using BioGeoBears script ...“. Tomu nerozumím, prosím vysvětlit. Věta dále pokračuje „[BioGeoBears] which compares several alternative biogeographic scenarios, and performs inference of biogeographic history on phylogenies, and also model testing and model choice of the many different possible models (dispersal, vicariance, founder.event speciation, DEC, DIVA, BAYAREA etc.). Tato věta je zčásti příliš obecným popisem toho co je cílem a postupem biogeografických analýz a v závorce pak směšuje biogeografické mechanismy, paradigmata, modely a programy. Celý odstavec o biogeografických analýzách je tak zcela nekonkrétní, neumožňuje pochopit a případně replikovat použitý postup, a je tedy nepoužitelný pro účely diplomové práce a je potřeba ho přepracovat pro účely připravované publikace.

U **popisu metod UV reflektance** a analýzy dat by určitě pomohl obrázek motýla a vyznačení všech ploch, které mají UV reflektanci v dané skupině a také sumární vyznačení minimálních a maximálních ploch s reflektancí. Z existujícího popisu mi není jasné co vlastně bylo analyzováno. Taktéž rekonstrukce ancestrálních stavů (ancestrálního stavu?) není dostatečně popsána a opět mi není jasné co se vlastně analyzuje. Obě věty následujícího souvětí mě spíše zmátly než přivedli na stopu toho co se analyzovalo: „We counted presence of different number of UV patterns per the 7 biogeographical areas and correlated them with a number of species in the area“. Tabulka 2 mi také neobjasnila co byly ty „different UV patterns“, protože jsou vyjádřeny čísly od 1 do 4.

Výsledky

Fylogenetické stromy **neobsahují podpory uzlů**. Není tedy možné posoudit robustnost získaných fylogenetických stromů.

Zcela nelze souhlasit s první větou výsledků: „The results of the three phylogenetic methods ... (Appendix 2-4) ... were congruent“. **Stromy RAXML obou genů se zcela zásadně liší a**

topologie témeř nemají společný fylogenetický průnik. Nic z následujících konfliktů mezi oběma markery není v práci uvedeno ani diskutováno a má to zcela zásadní dopad na další výsledky.

Srovnání RAXML stromů COI a Wingless obsahuje následující a další konflikty:

G. amintha je 5 samostatných kládů v COI, 2 ve Wingless.

G. cleopatra je 9 samostatných kládů v COI, 3 ve Wingless

G. rhami jsou 3 samostatné klády v COI, 3 ve Wingless

Oba geny mají zjevně zcela odlišný fylogenetický signál a nelze je tedy kombinovat, lze pouze pracovat s každým zvlášť.

Datování výsledného stromu vzniklého kombinací dvou nekombinovatelných markerů je již nesmyslem na druhou (viz. topologie a délky tohoto kombinovaného stromu v Appendixu 4).

- **Co se v kombinovaném stromu stalo s 5, 9, resp. 3 klády *G. amintha*, *G. cleopatra*, resp. *G. rhami*?** Toto nemohu sám posoudit, protože chybí identifikátory sekvencí u separátních analýz COI a Wingless.
- Kombinovaný strom (datovaný) ale obsahuje asi 10 separátních kládů *G. rhamni*, u *G. amintha* jsou min. 2 hluboké klády, u *G. cleopatra* min. 3 hluboké klády. Pouze *G. amintha* je v kombinovaném datovaném stromu monofyletická. **Já vidím v v kombinovaném datovaném stromu minimálně 25 druhů (známých je 16 a samplováno bylo 12). Proč nic z tohoto není v práci ani uvedeno ani diskutováno?** Nelze tedy souhlasit s poslední větou prvního odstavce výsledků „All species are well defined (Fig. 2)“.
- Jaký vztah má datovaný strom v Obr. 2 a v Appendixu 5? Nikde to není uvedeno. **Já se domnívám, že Obr. 2 je kolabovaný Appendix 5, ale v tom případě zcela nesouhlasím s tím jak byl strom kolabován do „druhů“.** Zde je třeba použít nějakou metodu a ne si kolabování dělat jak se komu líbí. Vzhledem k tomu, že oba markery mají zcela odlišnou topologii, navrhuji udělat tyto analýzy pro každý marker zvlášť.

Biogeografická analýza pracuje s kombinovaným kolabovaným datovaným stromem a zahrnuje tedy všechny předchozí pochybnosti je tedy z mého pohledu **a-priory nevěrohodná**. Jinak ale její výsledek není nijak překvapivý, je to kombinace vikariancí (z původně velkého areálu) a dispersí (v poměru 18:26 podle preferovaných výsledků).

Analýza UV reflektance je naopak založena na nekolabovaném kombinovaném datovaném stromě. **Proč ten rozdíl?** Čekal bych spíše použití detailnějšího stromu pro biogeografii, i vzhledem k přítomnosti tolika nových „druhových“ linií.

- Nelze mluvit o nárůstu reflektace u Kanárské linie zahrnující *G. maderensis* (str. 10, odstavec 2.), ta do Kanárské linie ve fylogenezi nevyšla.
- Tato kapitola uvádí že „the relationship between number of species and variability of the forewing was highly significant ...“ ale polovinu UV reflektujících druhů zahrnují Kanárské druhy, kde hádám, že nejsou všichni tři sympatričtí?

Diskuse

Diskuse je velmi krátká (jen 1 a $\frac{3}{4}$ stránky) a nejde vůbec do hloubky, je jen takovým porovnávacím shrnutím.

Diskuse uvádí, že většina druhů je dobře definována a že problémy jsou jen s několika druhy. Zde ale uvádí jiné druhy, než které jsem výše uvedl jako problematické na základě molekulárních analýz.

Formulace „The origin of UV reflecting pattern in *Gonepteryx* genus is monophyletic“ je nešťastná, i když dává tušit o co se jedná.

Hodnocení oponenta

Práci doporučuji k obhajobě, ale bohužel pro chyby a nedostatky v téměř celém analytickém aparátu hodnotím stupněm dobře. Autoři si také nejasnili, čemu chtějí v práci říkat druhy (tradiční determinace vs. výsledky molekulární fylogeneze) a jak tedy výslednou diverzitu „druhů“, areálů a UV reflektancí porovnávat, a co vlastně mají ta porovnání přinést. Diskuse nic takového neobsahuje, takže se vlastně na nic nepřišlo?. Bohužel také musím konstatovat, že většinu výhrad, které k práci mám, jsem již vznesl na semináři dávno před odevzdáním práce.

Přestože je práce podána formou rukopisu v anglickém jazyce, dokonce s vyjádřením podílu autorky, o rukopis zaslátelný do redakce oborového časopisu se nejedná a autory čeká nemalé množství práce na dalších verzích. Snad jim mé postřehy budou k užitku.

V Č. Budějovicích, 15. května 2018

Doc. Mgr. Oldřich Říčan, Ph.D.

