



**Prof. Ing. Blahoslav Maršálek, Ph.D.,**

Kamenice 753/5, pavilon A29, Brno, Czech republic

Tel.: +420 547 121 401, Mobil: +420 603 872955

Fax: +420 547 121 409

E-mail: [marsalek@sinice.cz](mailto:marsalek@sinice.cz)

<http://recetox.muni.cz/>

## Oponentský posudek doktorské dizertační práce

**Téma:** Cryptic diversity of cyanobacteria

**Autor :** Mgr. Eva Jahodářová

Vedoucí dizertační práce: Doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.,

**Práce je předložena k obhajobě na:** Př.F. UPOL, Olomouc.

Předložená práce vznikla na Přírodovědecké fakultě UPOL v Olomouci, na Katedře Botaniky, pod vedením Doc. RNDr. Petra Hašlera, Ph.D., práce je sepsána v jazyce anglickém.

Práce je přehledně členěna jako komentář k publikacím dizertantky a je členěna na 9 stranách jako základní úvod do problematiky, následují cíle dizertační práce, 7 stran použitých metod a 6 stran závěrů. V této souvislosti jsem postrádal diskuzi spojující myšlenku jednotlivých publikací a dizertační práce jako celku, po podrobnějším pročení však takovou kapitolou může být právě Conclusions, kde jsou diskutovány jednotlivé publikace. Součástí dizertační práce je kapitola v monografii, kde je dizertantka spoluautorem, Mgr. Eva Jahodářová je celkově autorkou či spoluautorkou 6 impaktovaných publikací (z toho jsou 4 jsou součástí dizertace a 2 jsou prvoautorské). Eva Jahodářová také vystoupila s posterem na 3 konferencích a v průběhu studia se účastnila 2 vědeckých projektů. Citovaná literatura obsahuje úctyhodných 11 stran citací. Drobnou vadou na kráse je fakt, že vlastní publikace a to jak kopie reprintů, tak kapitola v knize jsou přílohou dizertace, která však nemá číslované stránky. Po formální stránce působí práce dobrým dojmem s tím, že formátování finálního díla jsem viděl jen v elektronické verzi, která byla graficky vzorně vyvedená.

Cíle dizertační práce zahrnuje studium vláknitých sinic z různého prostředí za použití polyfázických metod. Specifické cíle byly především zaměřeny na popis nové rodové linie z čeledi Leptolygybyaceae a Pseudanabaenaceae. Dalším specifickým cílem bylo zhodnotit spolehlivost dat sekvencí sinic v databázi GenBank. Jen tento cíl by byl dostatečně výživný pro celoživotní vědeckou kariéru. Z přiložených publikací je zřejmé, že dizertantka zvládla nejen cíle, ale i metody vědecké práce což osobně velmi oceňuji především proto, že jde o metody náročné jak na čas, tak na preciznost provedení.

Začtu-li se do textu sumarizující materiál a metody, poněkud znejistím, protože je nutno konstatovat, že tato část precizností rozhodně neoplývá, naopak metody jednotlivých studií jsou popsány velmi povrchně a např. nevidím těsný soulad s metodami v originálních publikacích. Naopak kapitoly 3.2 a 3.3. považuji za jasné, stručné a přehledné.



Kapitolu 4 – Conclusions – která by se směle mohla jmenovat Discussion považuji za nejhodnotnější část dizertační práce Mgr. Evy Jahodářové. Ke každé publikaci je uvedena rozprava, která sice je na pouhé úrovni rozšířeného abstraktu, ale přináší nadhled v souvislostech, které znají ti, co mají přehled. A Mgr. Eva Jahodářová mě kapitolou 4 jednoznačně přesvědčila, že v oboru své dizertace přehled rozhodně má.

Při pročetí publikací, které předložila Mgr. Eva Jahodářová jako součást dizertační práce je vidět, že publikace jsou publikovány v dobrých časopisech a především přinášejí kvalitní vědecké informace. Je zřejmé, že Mgr. Eva Jahodářová nejen splnila cíle dizertační práce, ale že v průběhu vědecké výchovy získala dovednosti vědeckého pracovníka, které bude moci nabízet na mezinárodním trhu práce. Předložená práce ukazuje, že Mgr. Eva Jahodářová využila všechny možnosti, které jí nabídlo nejen zkušené pracoviště, kde práce vznikla, ale především využila možnosti vedoucího a konzultanta, kteří se na publikacích také podíleli.

K práci bych měl 3, v podstatě metodické dotazy:

- 1) Zajímalo by mě, proč bylo k izolacím kmenů použito Z-medium a ne např. Z-BBM, WC, BG-11 a další možnosti, což mě zajímá především v souvislosti s tím, že různý obsah mikroprvků či vitamínů může změnit nejen morfologické parametry a dokonce kultivovatelnost některých sinic, či jejich vývojových stádií
- 2) V závěru abstraktu píšete, že „metagenomická data by měla být vyhodnocována pečlivěji a revize by měly být prováděny pouze s robustním a správným výběrem taxonů“. Moc rád bych slyšel poněkud podrobněji rozpravu na téma robustní a správný výběr taxonů pro taxonomické revize můžete to rozvést podrobněji prosím?
- 3) V případě sinic je při popisu nových taxonů důležité sladit informace o morfotypu, genotypu a chemotypu. Zatímco morfotyp a genotyp je zde pojednán na skvělé úrovni, data týkající se chemotypu, tedy profilu typických metabolitů nového taxonu je v práci vskutku pomálu ač víme, že genotyp může obsahovat geny, které mohou exprimovat daný produkt, ale také vůbec nemusí a to po generace, v závislosti na prostředí. Zvažujete např. poslat izoláty nových taxonů na chemotipizaci např. MALDI-TOF profily proteinů na nějaké zahraniční pracoviště?

Závěrem lze s potěšením konstatovat, že předložená dizertační práce Mgr. Evy Jahodářové prokazuje její tvůrčí schopnosti, naplnila vytyčené cíle práce, splňuje požadavky kladené na práce v oboru dizertace a proto doporučuji tuto práci k dalšímu řízení pro udělení vědecké hodnosti Ph.D.

V Brně, 17.8. 2019

Prof. Ing. Blahoslav Maršálek, Ph.D.,

*opponent review*

This is a very good, possibly even excellent thesis. At first, I was a bit sceptical that the topic was simply too broad to produce a sensible, coherent thesis. However, upon reading the introductory chapters, Eva convinced me that her work actually resulted in a well-thought and coherent whole, composed of mutually interwoven and logically arranged studies. She starts with taxonomic revisions and new descriptions of several taxa, using the single-gene analyses. Then, she presents the phylogenomic analysis of a new genus and, finally, she presents a more general overview of available phylogenetic information on Cyanobacteria as a whole, based on the single most widely used marker. Thus the thesis makes sense, it contains valuable and interesting scientific stuff, the studies were published in suitable journals and it can apparently provide a basis for successful PhD defence.

I should point out that there are numerous mistakes in English language style and grammar throughout the "Introduction". In my view, their number is high but still tolerable. However, I would be happier if they were corrected by some kind of a language check prior to submission of the thesis.

The author proved by her analyses and results that she has, during her PhD study, become a specialist in evolution and phylogenetics of cyanobacteria. Therefore, the questions asked below are mostly focused on more general topics related to cyanobacteria and their evolutionary patterns. Thus, I should specifically mention that they are not meant to undermine the published results or the thesis as a whole. They are rather meant as discussion points that should enable to defendant to present her debating skills and to illustrate her grasp of this scientific area.

1) The author states multiple times that HGT belongs indeed among the "essential evolutionary factors" for cyanobacteria. Sure, they are bacteria, after all. So, how can you then expect a recently observed lineage to sustain its phylogenetic identity for 2.5 billions years? Shouldn't the genomes of these countless ancestor generations be overwritten many times by HGT processes during such an extremely long period of time? Having HGT in mind, is it even sensible to produce evolutionary reconstructions of taxa that are supposed to be THAT old in form of a bifurcating phylogenetic TREE? I am simply not sure if these methods, originally developed for multicellular animals, like mammals or birds, can be willy-nilly superimposed upon such a radically different members of the biosphere, such as cyanobacteria.

2) There also seems to be a noticeable conceptual gap in cyanobacterial research between the age estimates of individual lineages or taxa and their supposed geographic and ecological distribution. Thus, for example in this thesis, the authors of the study no. 1 state that "... a recent molecular study (Taton et al. 2003) provided evidence that cyanobacterial diversity and endemism in Antarctica is greater than assumptions of diversity/endemism based on microscopic analysis". On the other hand, extremely ancient origin of individual genera, or even species is suggested based on the age-calibrated trees. Thus, the author mentions that her newly described genus *Elainella* diverged at about 2.4 bya, approximately at the time of GOE. These two paradigms are clearly incompatible. Either the cyanobacterial taxa (like genera and species) are insanely old, much much older than any eukaryotes, or they have constricted geographical distribution on continents/regions which themselves have formed only about tens or 100/200 millions years ago. You simply cannot have both. Either it is sensible to travel to Antarctica for endemic cyanobacteria, or they are hundreds of millions, or even a few billions years old. One of those two things must be rubbish, or am I wrong??

3) Unsurprisingly, the author showed in her studies, that morphologically seemingly identical populations/strains may be phylogenetically widely different. She even describes several truly cryptic species, even genera. This is not very surprising. Bacteriologists working with other groups of Eubacteria or Archaea never expected that their microbes will be recognizable up to the species or genus level by means of light or electron microscopy. So, shouldn't you (and here I mean you - the cyanobacteriologists) finally admit that microscopy is not a suitable way for doing identification and taxonomy of your organisms? May be, such a paradigm shift would free the morphological analysis of cyanobacteria from futile attempts at naming individual studied cells or filaments seen in the microscope. Then, morphologies and plasticity of those morphologies could be much more directly linked to ecological conditions, environmental processes, or biotic interactions, without any unnecessary burden of traditional names and nomenclature. Or, am I wrong?

*Jiří Neustupa*

# Oponentský posudek disertační práce

Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

**Autorka:** Mgr. Eva Jahodářová

**Název:** Cryptic diversity of cyanobacteria

**Vedoucí práce:** Doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.

**Oponentský posudek vypracovala:** RNDr. Eliška Kozlíková, Ph.D., Biologické centrum AV ČR, Hydrobiologický ústav, České Budějovice

---

Mgr. Eva Jahodářová se ve své disertační práci věnovala tématu kryptické diverzity sinic, které je v současné sinicové taxonomii velice aktuální, široce diskutované a řešené.

Disertace je založená na pěti originálních publikacích, z nichž jednou je knižní kapitola a čtyřmi dalšími jsou články v kvalitních impaktovaných mezinárodních vědeckých časopisech. Mgr. Eva Jahodářová je u dvou z nich hlavní autorkou (popisy nových sinicových rodů *Onodrimia* a *Elainella*), ke dvěma dalším významně přispěla jako druhá spoluautorka (popis *Pinocchia polymorpha*, analytická studie použitelnosti a reprezentativnosti dat z genových databází pro revize v sinicové taxonomii), u knižní kapitoly o diverzitě sinic je členkou spoluautorského kolektivu.

Výsledky práce považuji za velmi přínosné, přesto bych měla několik kritických připomínek.

Výhradu mám k logickému uspořádání práce. Kromě kryptické diverzity sinic v obecné rovině není mnoho dalšího, co by práci propojovalo v logický celek. V důsledku toho Part 4 Conclusions obsahuje podkapitolky, které odpovídají závěrům jednotlivých přiložených originálních publikací, protože obecné shrnující závěry by se formulovaly těžko. To není u disertace příliš obvyklé, ale samo o sobě to jistě není na závadu, protože výsledky jsou kvalitní a pro porozumění celkové diverzitě sinic velice potřebné. Bylo by však vhodné řádně promyslet úvodní propojující obecné kapitoly a do logického sledu lépe uspořádat originální články.

Vzhledem k tomu, že originální publikace nejsou řazeny ani dle data publikace, ani abecedně dle autorů, bylo by vhodné zvážit jejich logický sled. Překvapilo mě zařazení knižní kapitoly na první místo mezi publikacemi na jedné straně a na druhé straně zařazení článku (Dvořák et al. 2018) na místo poslední. Zmíněný článek (Dvořák et al. 2018) je velice zdařilou studií analyzující spolehlivost a použitelnost dat dostupných v GenBanku pro revize v sinicové taxonomii. Diskutuje úskalí, limity a vypovídací hodnotu dostupných dat a jako takový se mi jeví jako ideální úvod do celé problematiky. Na druhou stranu, knižní kapitola se s tématem předkládané disertace překrývá jen částečně a zbylé přiložené originální publikace spíše doplňuje.

Několik kritických poznámek mám i k úvodním shrnujícím kapitolám, na kterých se zřejmě trochu podepsala časová tíseň při dokončování disertace. Text by místy zasloužil drobné korektury formální (např. doplnění určitých a neurčitých členů, drobné chyby v koncovkách, užití předložek, překlapy ve jménech autorů, opakující se formulace, příslovce místo přídavného jména, chyby typu temperature místo temperate atp.) nebo po stránce formulační přesnosti a provázanosti textu. V této souvislosti bych měla následující poznámky:

Str. 4 – „The first bacteria were sequenced in 1977.“ – Přesnost vyjádření; nešlo o celý genom, jen o určité jeho úseky.

Str. 8 – Rod *Limnothrix* by bylo v podkapitole 1.5.1 třeba lépe provázat se zbytkem, nějak uvést, proč je na tomto místě zmiňován. Ve stávající podobě působí první zmínka o něm v textu jako výkřik.

Str. 13 – Shrnující metodické kapitoly by měly být vysvětlující samy o sobě, bez nutnosti hledat v příložených, již opublikovaných člancích. V kapitole *Strain isolation* by bylo vhodné uvést GPS souřadnice vzorkovaných lokalit. U kódů kmenů by bylo užitečné uvést i jejich taxonomické zařazení (jméno rodu). V této kapitole rovněž postrádám informace o tom, jakým způsobem byly sinicové kmeny izolovány.

Str. 14 – V kapitole *PCR amplification and sequencing* chybí informace o sekvenování (metodický popis končí PCR amplifikací a klonováním PCR produktů).

Pro větší přehlednost celé obecné metodické části by bývalo bylo užitečné, kdyby autorka vytvořila přehled studovaných rodů, kde by uvedla, co u kterého bylo studováno.

V kapitole 4.2.3 *The complex genomic approach in a description of Elainella* se zmiňuje morfologická podobnost a překryv v morfologických charakteristikách rodů *Pseudophormidium*, *Plectonema* a *Leptolyngbya* a nového rodu *Elainella*. Až na rody *Plectonema* vs. *Pseudophormidium* však nejsou morfologické charakteristiky a vymezení rodů příliš konkrétní. Zejména zde postrádám informaci, zda je nějak morfologicky vymezen nově vyčleněný rod *Elainella*, či komentář o tom, jakým sinicovým typům je morfologicky nejpodobnější (kromě srovnání s molekulárně zřejmě nejbližším kmenem *Leptolyngbya* sp. JSC-1).

Kapitola 4.2.4.: „There are two ways to explain this situation, the cultivation of most cyanobacteria is very unsuccessful or that habitats with a high amount of uncultured cyanobacteria are lacking in metagenomics data.“ – Této větě příliš nerozumím, připadá mi, že si odporuje. Není mi zcela jasné, k čemu se přesně vztahuje.

V kapitole 4.2.4. mi dále připadá dosti nešťastné umístění následující části textu: „Cyanobacterial and algal members of planktic habitats are prominently studied... where the vast majority of phycologists do their research (Dvořák et al. 2017b). „ Tento text nijak zvlášť nenavazuje ani na předcházející, ani na následující část textu. Zároveň obsahuje zbytečně podrobné informace, které nejsou k řešení problematice příliš relevantní. Pokud bylo cílem této části textu konstatování, že ne všechna společenstva a všechny geografické oblasti jsou co do sinicové diverzity prostudovány stejně, postačilo by jistě takto obecné tvrzení. Pokud už autorka zmiňuje plankton a sladkovodní sediment, bylo by třeba vyjmenovat a zhodnotit i celou řadu dalších habitatů, kde se sinice rovněž vyskytují. Což je pro stručnou sumarizaci výstupů z příslušné autorské publikace už nadbytečné. Rovněž se mi zdá na tomto místě zbytečné zmiňovat vybrané konkrétní taxony popsané z epipelonu.

V Oddílu 6 (*List of publications included in this thesis*) byl u článku II ponechán zřejmě nějaký předběžný název a stránkování, které se neshoduje s názvem a stránkováním opublikovaného článku.

Dále bych měla dotaz k článku II, který kromě popisu nového rodu *Onodrimia* přináší i velice potřebnou fylogenetickou analýzu celé velké skupiny morfologicky podobných sinic z okruhu rodu *Leptolyngbya*. Nepodařilo se mi nalézt informaci o délce sekvencí 16S rRNA genu, které byly vstupními daty pro tuto fylogenetickou analýzu.

Pokud jsou v textu použity zkratky, měly by být vysvětlené (konkrétně str. 17 – ICN, ICNP).

Další dotazy na autorku:

Str. 3 – „It is absolutely necessary to make revisions of the great majority of genera and species quickly enough.“ Nepochopila jsem toto tvrzení v kontextu, v jakém je uvedeno (morfologická konvergence), prosím o vysvětlení.

Str. 20 – Proč je v disertaci za kryptickou linii považována i *Pinocchia*, když je podle popisu morfologicky definovaná docela dobře (polární gasvesikly, prodloužená špičatá nebo kónická koncová buňka)?

I přes výše uvedené výhrady a poznámky považuji disertační práci Mgr. Evy Jahodářové za kvalitní a velmi přínosnou a potřebnou. Taxonomické revize sinic obnášejí pečlivou mravenčí práci, na konci které je jen maličký kamínek do mozaiky celkové diverzity. Každá taková kapička poznání v moři nepoznaného je však nesmírně důležitá. Velice oceňuji množství odvedené práce i zvládnutých metod (vč. molekulárních analýz, celogenomového sekvenování, analýzy sekundárních struktur 16S-23S ITS, analýzy velkého balíku dat z GenBanku). Disertační práci doporučuji k obhajobě.

V Písku 11.8. 2019



.....  
RNDr. Eliška Kozlíková, Ph.D.