

## Oponentský posudek bakalářské práce:

Leština Dan, 2012. Populační genetika dvou ohrožených perleťovců moravských Karpat

Bakalářská práce Dana Leštiny se zabývá studiem populačně-genetické struktury dvou ohrožených druhů perleťovců, *Argynnis adippe* a *A. niobe* v moravské části Karpat. Tyto ještě donedávna běžné druhy zaznamenaly v posledních letech dramatický úbytek a autor si proto klade užitečné otázky, např. jak souvisí pokles početnosti s jejich ekologií v kontextu měnící se krajiny a jaký je jeho vztah ke genetické diferenciaci populací, kterou dále porovnává se známými údaji o dalších, převážně evropských druzích motýlů. Jedním z konečných cílů tak může být navržení vhodného managementu příslušných území s výskytem studovaných druhů; práce tak mimo vědecké hodnoty nabízí i přínos ochrannářský a jeví se velmi prospěšnou.

Těžištěm práce je populačně genetická analýza obou taxonů založená na mikrosatelitních datech. Autor pracuje převážně s materiálem který sám nasbíral a posléze samostatně zpracoval, od izolace DNA přes úspěšnou amplifikaci zvolených SSR lokusů až po statistickou analýzu. Genetická část je navíc vhodně doplněna o analýzu MRR dat nasbíraných autorovými kolegy. Práce má jasně definované cíle, vhodně zvolenou metodiku a jednoznačné výsledky, které Dan úspěšně interpretuje v zajímavé diskusi. Práce nemá odborného konzultanta z oboru populační genetiky, což dále podtrhuje autorovu schopnost samostatné práce.

### **K práci mám následující připomínky:**

Práce má poměrně dost formálních nedostatků, jejichž společným jmenovatelem je úspornost stylu (týká se metodické a výsledkové části). Chybí mi např. představení, pojmenování a způsob výpočtu Wrigtových F-statistik (případně Excoffierových  $\Phi$ -statistik) včetně vysvětlení jejich indexů (ty navrhuji psát velkými písmeny) a vztahu k testovaným hierarchickým úrovním. Dle autora základní koeficient  $F_{ST}$  tak nedostane v celé práci žádné pojmenování, ač může být zván fixačním indexem. Toto pojmenování (fixační index) naopak obdrží v legendě k tabulce 4 veličina F, která je soudě dle několika záporných hodnot statistikou F s neuváděným indexem IT, představenou na str. 15 jako "inbreeding coefficient". Metodika výpočetní části populačně genetické analýzy se tak vešla na pouhých 19 řádků, což ve výsledku značně hendikepuje zvláště negeneticky orientované čtenáře. Na stejný počet řádků je vtěsnána i veškerá textová část výsledků vlastní populačně genetické práce. Z dalších připomínek uvedu např.:

- Obr. 1 až 3 mi připomínají slepé mapky, jimiž trápí učitelé na základní škole žáky v hodinách zeměpisu. Naprostým vrcholem by byla na obr. 3 barevná fyzická mapa, aby si mohl čtenář lépe představit izolovanost jednotlivých údolí. Nezbytným minimem pak musí být alespoň označení lokalit v obr. 3 a ve všech mapách nějaké měřítko. Té čáře co vyznačuje státní hranici se v technickém kreslení říká čerchovaná.
- Tabulkám 9 až 11 chybí jakýkoli název, legenda začíná informací co je pod diagonálou. Legendy k tabulkám 6 a 7 se ohledně vysvětlivek odkazují na tab. 5, jejíž legenda nás ovšem přesměruje na tab. 4. Na tabulku 2 je v textu poukazováno dříve než na tab. 1.
- Uvítal bych více informací o vyřazených nulových alelách.
- V tab. 8 a 9 bych místo konfidenčních intervalů dal přednost informaci o průkaznosti získaných odhadů párových fixačních indexů  $F_{ST}$ , tak jako je to v tab. 10 a 11. V legendě k tab. 10 a 11 poněkud koliduje označení nulové hypotézy se symbolem zavedeným pro pozorovanou heterozygotnost, a doplnil bych zde testovanou hladinu průkaznosti
- Pro mikrosatelity je poněkud nekonzistentně užívána zkratka "STR" i "SSR" (byť jsou představeny obě). Nenašel jsem vysvětlení zkratky GGD pro geografickou vzdálenost. Zkratku "pp" pro primer pairs považuji za nadbytečnou, zvláště v diskusi působí rušivě. Jazykově smíšenou zkratku "ppw" pro průměrné pairwise hodnoty navrhuji celou počesitit nebo spíš poangličtit.
- Při přípravě manuskriptu bych navrhoval nahradit program GenAlEx sofistikovanějším – alespoň z pohledu budoucích oponentů.
- Práce by si zasloužila atraktivnější název. Chybí poděkování kolegům poskytnuvším MRR data.

### **Na autora práce mám následující dotazy:**

1) Pro extrakci DNA byl použit snad nejdražší možný izolační kit, pro multiplexní amplifikaci SSR lokusů naopak svého času nejlevnější polymeráza, navíc s pomocným barvivem které může podle některých názorů interferovat s detekčním značením primerů. Prováděl autor před použitím tohoto uspořádání

praktické ověření porovnáním s amplifikací v simplexu a/nebo za použití jiné polymerázy (viz např. velký počet heterozygotů zmiňovaný v prvním odstavci diskuse)?

2) Primery navržené firmou Genoscreen na základě komerčně zhotovené SSR knihovny jsou bioinformačně ověřené a většinou designované na stejný bod tání. Lišily se ve svých termodynamických a strukturních charakteristách vybrané páry významněji od ostatních? Proč nebyl pro vytvoření SSR knihovny použit směsný vzorek obou druhů?

3) S jedinci nasbíranými na jedné lokalitě je dále zacházeno jako s jednou subpopulací, mezi subpopulacemi ve výsledku není významná genetická divergence, takže zřejmě nevádí jejich závislost. Zkoušel autor vyhodnotit získaná data alternativně nějakým klastrovacím programem (např. STRUCTURE)?

4) Považuje autor počet permutací při odhadu  $\Phi$ -statistik (999) za dostatečný?

**Závěr:**

Není pochyby o tom, že Dan během bakalářského studia odvedl značné množství práce, osvojil si velké množství znalostí a dovedností, které je schopen samostatně použít, a že jeho výsledný elaborát splňuje a dle mého názoru dalece převyšuje nároky kladené na bakalářskou práci. Přeji mu mnoho štěstí u státnic a co nejdříve přijatý manuskript, který z uvedené práce po příslušných úpravách bezpochyby vzejde (byť se jedná do jisté míry o negativní výsledek). Práci budu hodnotit jako výbornou.

V Českých Budějovicích 24.5. 2012



Lubomír Piálek