

Dr. Ivana Viktorinová
Max Planck Institute of Molecular Biology and
Genetics (MPI-CBG)
Pfotenhauerstr. 109
01307 Dresden

Tel.: +49 (0) 351 210-2836
e-mail: viktorin@mpi-cbg.de

Přírodovědecká fakulta JU

Katedra genetiky
Branišovská 31
370 05 České Budějovice

Věc: Posudek na bakalářskou práci Kristýny Vrbové

Bakalářská práce Kristýny Vrbové se zabývá populačně-genetickou analýzou osmi jihočeských populací koprofágního brouka (*Aphodius prodromus*). Autorka pro tuto analýzu vybrala deset enzymů, které odkryly nedostatek heterozygotů v analyzovaných populacích, nízký genetický tok mezi populacemi a podrozdělení celkové jihočeské populace *A. prodromus* do divergovaných subpopulací. Vzhledem k hospodářskému významu tohoto brouka se tak jedná o cenná pilotní data.

Samotná práce je přehledně strukturovaná, s jasným cílem a výsledky. Hlavním pozitivem této bakalářské práce, které by mělo být oceněno, je zavedení alozymové metody autorkou u *A. prodromus* bez předchozích zkušeností. Barvení aktivity enzymů u různých druhů hmyzu nebývá, pokud není předem zavedeno, triviální. Autorka byla dále schopna statisticky vyhodnotit získaná data s použitím standartních metod populační genetiky. Je jen škoda, že autorka výsledky pouze popisuje a určitá její vysvětlení jsou nepřesná. Kromě pár malých nedostatků, práce netrpí výraznými gramatickými chybami.

K bakalářské práci Kristýny Vrbové mám tyto připomínky:

- 1) *Anotace:*
 - autorka by měla trochu upravit angličtinu a dávat si pozor na singular a plural: “analyses were”, ale “analysis was”. Číslovky do deseti se v angličtině píší slovem.
- 2) *Úvod:*
 - a. autorka by měla raději začít významem koprofágních brouků a výčet čeledi přesunout do 1.2, vyhne se tak zbytečnému opakování. Správné taxonomické zařazení brouka (např. uvedení řádu *Coleoptera*) chybí.
 - b. autorka rozděluje skupiny koprofágních brouků na váleče, tuneláře a “dung dwellers”, napadá autorku český ekvivalent k tomuto anglickému výrazu?
 - c. v bodě 1.5 je nesprávné skloňování Roslin a Koivunene, viz literatura

- 3) *Materiál a metody:*
- Obr. 2: bylo by dobré použít geografické měřítko a ukázat lokality vzhledem k celé České republice, případně k Evropě.
 - Tab.1: je informace o nadmořské výšce nezbytná nebo autorka našla souvislosti s nadmořskou výškou a charakterem populací?
 - Autorka nepřesně definuje rozdíl mezi alozymem a izozymem, mám proto pro autorku kontrolní otázku, má být esteráza označena jako alozym nebo izozym?
 - Obr. 3: doporučila bych použít jiné zymogramy, které jasně definují rozdíl mezi monomerním, dimerním a tetramerním enzymem. Pro ukázkou může autorka použít zymogram z publikované literatury a příslušně ocitovat. Pokud se autorka rozhodne pro označení alel, měly by korespondovat s označením v příloze 3. Obr. 3a je subjektivně hodnocen, podle mě ukazuje tři různé alely.
 - Tab. 3 patří spíše do příloh.
- 4) *Výsledky:*
- Obr. 4a: autorka poukazuje na Est-2, avšak v Tab. 2 neudává, jaký lokus esterázy analyzovala, pokud je schopna rozlišit Est-2, měla by být schopna definovat analyzovanou Esterázu (?).
 - Obr. 4b: proč se autorka domnívá, že slabší proužky u Amylázy jsou kontaminace parazity nebo symbionty a ne produkt případné kopie genu amylázy (v bodě 5.2 se zmiňuje o Amy2)?
 - Ad bod 4.1: čísla udaná nesouhlasí s čísly v Tab. 4.
 - Analýza privátních alel by měla být přesunuta do bodu 4.2, aby nebyla vytržena z kontextu, v bodě 4.1 autorka ještě neodkazuje na přílohu 3, z které je existence privátních alel patrná.
 - Ad bod 4.2: podobně jako v bodě 4.1, autorka by neměla být skoupá na slovo a měla by uvést všechny možné příčiny nedostatku heterozygotů a nebo příčiny nejlépe nechat až do diskuze.
 - Příloha 3 by měla být přesunuta do hlavního textu, z této tabulky lze vyčíst jaké enzymy byly analyzovány v jakých populacích, kolik bylo použito brouků, kolik nalezeno alel. Tento přehled by měl posloužit pro lepší interpretaci výsledků. Na základě těchto dat, autorku nenapadá např. proč jsou populace RH (Rychnov nad Malší-hřbitov) a Ti (Tichá) nejméně příbuzné ač geograficky blízké a navíc odlišné od ostatních?
 - Příloha 4 by měla být udělaná podobně jako příloha 5, protože není jasné jaké lokusy nebyly analyzovány u konkrétní populace a jaké jsou v HW rovnováze.
 - Ad bod 4.6: Text odkazuje na nesprávné obrázky.

Autorka by měla lépe vycílit technické nedostatky spojené s rozjetím proteinových variant (proužků) daného enzymu, neměly by být kostrbaté jako na Obr. 4a,b (např. zde může mít autorka problém s "hladkostí" interfáze mezi "running" a "stacking" gelem či zbytečně rychlým sjížděním gelů) ani rozmazané a nejasné jako na Obr. 3 nebo Obr. 4a (to může být způsobeno nesprávným barvením, např. v protokole pro barvení Esterázy by mělo být 0,05g a ne 0,5g Fast Blue RR). Tato skutečnost výrazně ovlivní počet rozlišených alel a tím celý sběr dat, stejně tak následnou statistickou analýzu. Pro příští alozymovou analýzu populací *A. prodromus* by tedy bylo dobré zaměřit se na menší počet (např. 3-5) monomerních max. dimerních enzymů, u kterých lze jasně rozlišit jednotlivé alely, a zahrnout větší počet analyzovaných brouků pro danou populaci (alespoň 30 na jednu lokalitu). Kontrolní populace z jiné oblasti Čech či jiné části Evropy (světa) by neměla chybět.

5) *Diskuze:*

- a. Ad bod 5.1: zde by bylo dobré, pokud autorka chce udat souhrné údaje o počtu alel, aby zmínila kromě ME, Amy a Est i další použité enzymy v této práci a porovnála s dostupnými daty jiných koprofágních brouků.
- b. Ad bod 5.2: vysvětlení vysoké $H_E = 0,52$ není správné. I když autorka pracovala, jak píše, s velkým množstvím polymorfních lokusů (s deseti), to samo o sobě nemůže být důvodem proč je H_E vysoká. V úvodu (bod 1.5) autorka zmiňuje publikaci Portera a Rushe, kteří pracovali s 32 lokusy, a přesto jimi nalezená očekávaná heterozygotnost byla nízká, podobná ostatnímu hmyzu (str. 24). Jaké jiné vysvětlení autorka navrhuje? Pokud by jednotlivé populace byly testovány na HW rovnováhu přes všechny použité enzymy, lze nalézt populaci v rovnováze?
- c. Ad bod 5.3: Jak autorka mohla detekovat prázdnou (null) alelu u esterázy, která kóduje monomerní protein? Autorka uvádí, že celková jihočeská populace je rodělena do subpopulací s malým mezipopulačním genetickým tokem, dal by se nedostatek heterozygotů v analyzovaných populacích vedle inbreedingu vysvětlit genetickým driftem?

Vzhledem k tomu, že se jedná o bakalářskou práci, u které je cílem zvládnutí zadané laboratorní metody, stejně tak schopnost získat, vyhodnotit a interpretovat obdržená data, doporučuji tuto práci k obhajobě a navrhuji známku *velmi dobře* (2).

V Drážďanech, 12. ledna 2012


Ivana Viktorinová