



Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Anny Sattranové  
**Genetická variabilita a fylogeografie mšice zhoubné *Diuraphis noxia* (Aphididae)**

Předložená diplomová práce se zabývá analýzou mikrosatelitních márků u 119 populací tohoto druhu mšice z 12 států, celkově bylo analyzováno 433 jedinců.

V úvodu se studentka věnuje stručně popisu biologie mšice zhoubné, ale především dosavadním studiím zkoumajícím genetickou diverzitu tohoto druhu. Tyto studie jsou uváděny chronologicky, každá je popisována zvlášť. U některých je popis jaký lokus byl monomorfní či polymorfní spíše navíc a některé části by měly být raději využity v diskuzi, kde je prostor pro detailní konfrontaci vlastních výsledků s ostatními studii.

- V části popisující studie prováděné na *D. noxia* v „naší“ laboratoři (nikde v práci není uvedeno v jaké laboratoři studentka práci prováděla) je citace autorů provedena zvláštním způsobem i s tituly a křestními jmény. Podle citační normy by měla být v textu práce uvedena pouze příjmení a rok vydání práce, nikoliv titul a celé jméno autora. V diskuzi jsou již v textu diplomové práce citovány správně.

- Při používání rodového jména jakéhokoliv druhu se zkratkou „sp.“ se tato nepíše kurzívou. Dále v textu na stránkách 3 a 7 je několik pravopisných chyb.

Cíle práce byly formulovány jasně, hlavní myšlenkou bylo rozšířit doposud analyzovaný soubor populací mšice zhoubné a pomocí mikrosatelitní márků na základě výsledků odvodit současné rozšíření druhu a možné invazní cesty z původního areálu rozšíření do Evropy a Ameriky. O tom, že je toto téma poměrně aktuální svědčí i počet záznamů na WOS, kde se každý rok objeví kolem dvaceti publikací zabývajících se různými aspekty biologie tohoto druhu, včetně molekulárních studií.

V kapitole Materiál a metody je dostatečně popsán k analýzám použitý materiál a laboratorní metody. Detailně jsou popsány statistické metody použité pro zpracování obdržených dat, využívající specializovaný software pro práci s mikrosatelitními daty.

- Anglické výrazy, které ačkoliv podvědomě víme, co znamenají a rutinně používáme, by měly být v závěrečných pracích použity buďto psané kurzívou anebo jejich české ekvivalenty. V případě výrazu *pattern* (vzor), spojení „pruhový pattern“ zní dost zvláštně a šlo by nahradit českým **vzor jednotlivých fragmentů** či jejich **pořadí**. Slova *enhancer* by šlo nahradit výrazem **zlepšovač** či význam opsat, z původní: „Při práci s polyakrylamidovými gely byl vyzkoušen Enhance IT® Polymer Solution (10x) (Elchrom Scientific). Jedná se o enhancer pro polyakrylamidové gely, které mají poměr akrylamidu vůči bis-akrylamidu 29:1. Cílem přidávání enhanceru byla snaha o větší pružnost gelu a tím lepší manipulaci.“ na: ... „Jedná se o roztok zlepšující vlastnosti polyakrylamidových gelů, které mají poměr akrylamidu vůči bis-



akrylamidu 29:1. Cílem přidávání roztoku zlepšující vlastnosti byla snaha o větší pružnost gelu a tím lepší manipulaci.“

Výsledky jsou popsány velmi stručně, nicméně přehledně. Pro mne překvapující je extrémní nadbytek heterozygotů v populacích. U organismů se kterými běžně pracuji (ryby, raci) jsem se s tímto jevem nesetkal.

- Existují ještě podobné příklady organismů, kde se můžeme setkat s takovým nadbytkem heterozygotů v populacích?

V případě zobrazení genetické příbuznosti pomocí programu GenAlEx (Obr. 4) je možné získat lepší představu o poloze jednotlivých bodů (populací, států apod.) při použití volně stažitelného programu GENETIX, který zpracovává data v 3D grafu, kde je vidět prostorové uspořádání jednotlivých bodů. Body, které ve 2D zobrazení leží zdánlivě blízko sebe, mohou být ve skutečnosti více vzdálené a naopak.

- Zobrazení výsledků analýzy molekulární variance koláčovými grafy (strana 28) by mohlo být nahrazeno popisem v textu s uvedením procent variance náležícím jednotlivým jednotkám (populacím, regionům atp.). Grafy zabírají zbytečně mnoho místa. Podobně je tomu i u zařazení grafického vyhodnocení proměnné K (strana 30-31).

- Opět používání počeštěných anglických výrazů (strana 30) jako „bargraf“, který by mohl být nahrazen jednoduše výrazem sloupcový graf, či sloupec. Slovo klastř je v práci použito vícekrát, někdy v uvozovkách jindy bez nich. Podle mého názoru je tento výraz možno použít bez uvozovek. Stejně tak mi není jasný uvozovkami označený výraz náležitost, který lze v kontextu bez problémů použít.

V diskuzi studentka konfrontovala svá zjištění s dostupnými informacemi ze studií prováděných na *D. noxia* a podle záznamů na WOS citovala recentně publikované práce na podobná témata. Bohužel až příliš se zde opakují výsledky, vlastně většina diskuze by mohla být přesunuta do výsledků. Rovněž uspořádání diskuze je možná nepřírovně rozdělené podle jednotlivých analýz a díky tomu jsou jednotlivé podkapitoly doplňovány znovu vypisováním výsledků namísto rozsáhlejší konfrontace s literárními zdroji. Asi nejmarkantnější na podkapitole 5.5.2.4 Program „Alleles In Space“. Použití souvislého textu rozděleného pouze na odstavce s logicky plynoucím textem by snad působilo lépe.

Autorka se zaměřuje pouze na konfrontaci výsledků se studii na *D. noxia* a nekonfrontuje s dalšími (příbuznými) organismy. Jak sama v úvodu konstatuje, existuje na 100 druhů mšic uváděných škůdci s hospodářským významem.

Díky syntéze všech ukazatelů z genetických analýz vypadá teorie o invazi prezentovaná v úvodu (o invazi *D. noxia* na americký kontinent přes státy severní Afriky, Španělska a Francie a nikoli přes střední Evropu) pravděpodobnější než ta prezentovaná v publikaci Li et al. (2012).



- Můžeme nalézt podobné cesty zavlečení s podobnými tendencemi genetické diverzity i u dalších nepůvodních druhů na území Severní či Jižní Ameriky?

Závěr je na tak rozsáhlou analýzu až příliš stručný, nicméně výstižný. Použití citací je zbytečné, protože vše již bylo řečeno v diskuzi s detailnějším komentářem. V závěru stačí pouze shrnout do několika málo vět vystihujících podstatu nejzásadnějších výstupů.

#### Závěrečné hodnocení

Studentka Anna Sattranová prokázala schopnost práce s daty a ovládání několika programů na statistické zpracování mikrosatelitních dat. V úvodu postrádám odstavec o podílu studentky na pracích a výsledcích v práci prezentovaných. Jak sama konstatuje, navazuje na výsledky a práce provedené kolegy. I tak je soubor analyzovaných populací a jedinců uspokojivý.

Studentka se až příliš zaměřila na konfrontaci výsledků pouze s několika málo recentními, i když zcela zásadními publikacemi na *D. noxia*, a opominula širší rámec porovnání nejen s tímto druhem mšice, či mšicemi obecně. Podle mého názoru jsou tato data velmi vhodná k publikování, škoda jen, že nebylo použito metod fragmentační analýzy pomocí automatických sekvenátorů, které by publikovatelnost výrazně zvýšily. Ačkoliv jde o finančně nákladnější metodu, zejména způsob vyhodnocování je mnohem méně pracný. Navíc studie citované v práci používaly také tento způsob vyhodnocování mikrosatelitních lokusů. I když se v závěrečné práci místy vyskytují pravopisné chyby nebo jazykové nejasnosti, celkový dojem z hodnocené práce je kladný.

Doporučuji závěrečnou práci k obhajobě a hodnotím stupněm **velmi dobře**.

Ve Vodňanech 16.1.2014

Martin Bláha, Ph.D.

Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Anny Sattranové

**„Genetická variabilita a fylogeografie mšice zhoubné *Diuraphis noxia* (Aphididae)“**

Magisterská práce Anny Sattranové se zabývá genetickou analýzou populací důležitého škůdce obilovin, mšice zhoubné, pomocí mikrosatelitních markerů. Autorka svou studii navazuje na magisterskou práci Jiřího Pašíkovského, která byla vypracována ve stejné laboratoři. Soubor dat ale významně rozšířila o velké množství nových vzorků a z literatury vytypovala další mikrosatelitní markery, zoptimalizovala pro ně podmínky a otestovala variabilitu. Získané výsledky jsou tak mnohem přesnější a bylo pro ně možné použít mnohem pestřejší škálu statistických metod, jejichž výsledky jsou v práci presentovány. Autorka také přináší důkazy pro podporu nové teorie navržené Dr. Starým z ENTÚ, AV ČR o původu invaze mšice zhoubné na americký kontinent. Práce je napsaná čtivě s malým množstvím překlepů. Nemám k ní žádné zásadní výhrady, pouze pár návrhů a drobných připomínek.

Připomínky a dotazy:

- 1) Prosím o sjednocené psaní českých jmen k názvům organismů k uváděným latinským a anglickým jménům, pokud je dané české synonymum běžně používané, např. kapitola 1.2, str. 3 – Slunéčko sedmítečné - *Coccinella septempunctata* nebo Virus mozaiky sveřepu – „brome mosaic virus“.
- 2) Kapitola 1.3, str. 4 – Je tu poprvé použita zkratka mtDNA, bylo by vhodné do závorky uvést celý její význam – tedy „mitochondriální DNA“, tak jak je to uvedeno u ostatních zkratk v textu.
- 3) Kapitola 3.4, str. 12 – Chybí informace o použité chemii pro PCR reakci.
- 4) Kapitola 4.4.2 – Genetická variabilita populací, str. 22 a navazující Tabulka 6. Líbilo by se mi přehlednější vysvětlení zkratk lokalit pro čtenáře, než je jen strohý odkaz na objemnou přílohu 1. Například do legendy Tabulky 6 by bylo vhodné uvést alespoň význam zkratk pro státy. Případně pokud jsou-li některé lokality a výsledky pro ně zmiňovány v textu, pomohlo by zkratku, použitou v Tabulce 6, uvést do závorky pro lepší čtení výsledků. Dále by bylo vhodné do legendy Tabulky 6 uvést, co znamenají značky ns, \* a – pro zobrazení výsledků testu Hardy-Weinbergovy rovnováhy. Tyto značky jsou pro test významnosti použity bez vysvětlení i u Tabulky 7.
- 5) Na straně 25 autorka zmiňuje výsledky hledání nulových alel pomocí programu MicroChecker. Kromě slovního hodnocení, by bylo vhodné uvést do práce konkrétní výsledky, třeba jen formou tabulky v příloze (přehled lokusů a populací s nalezenou nulovou alelou). Našla autorka nulové alely v homozygotním stavu při samotném vyhodnocování gelů?

- 6) Obrázek 4, str. 27 - Barevný kód pro zobrazení populací bych uvítala spíše v legendě obrázku než v textu výsledků.
- 7) Pro výsledky AMOVy nejsou uvedeny hodnoty spolehlivosti. V textu výsledků na straně 27 autorka pouze uvádí, že zjištěné hodnoty variability detekované mezi populacemi, státy a kontinenty jsou malé. Jsou ale významné a dá se těmto malým hodnotám věřit?
- 8) U dendrogramu na straně 33 chybí informace, jakým způsobem byl zvolen jeho kořen. Bylo to rozhodnutím statistiky (tedy midpoint rooting) nebo jinak? Zobrazení bootstrapu by bylo vhodnější v %. Ocenila bych barevné zvýraznění populací třeba podle podobného kódu, který byl použitý pro PCoA.
- 9) Uvítala bych přehlednější řazení objemné tabulky vzorků v příloze 1 například podle země původu, lokality, roku sběru, aby se v ní čtenář mohl lépe orientovat.
- 10) Na straně 36 autorka zmiňuje, že: „Mikrosatelity jsou velmi variabilní, ale díky rychlému šíření *D. noxia* a jejímu parthenogenetickému rozmnožování lze předpokládat, že čím déle se *D. noxia* v dané lokalitě vyskytuje, tím větší má potenciál k vyššímu počtu alel na lokus.“ – Potvrzují toto její data?
- 11) U většiny analyzovaných populací byl zjištěn nadbytek heterozygotů, autorka to vysvětluje vlivem partenogenetického rozmnožování *D. noxia*. Jaký vliv by na tuto hodnotu mohla mít vysoká mutační rychlost mikrosatelitů a fakt, že analyzované vzorky byl sbírány v různých letech?

Závěrem prohlašuji, že předložená diplomová práce Bc. Anny Sattranové splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a proto ji **doporučuji k obhajobě** a navrhuji známku výborně (1).

Stockholm, 17.1.2014



Mgr. Lucie Kučerová, Ph.D.