



Stockholms
universitet

Institutionen för molekylär biovetenskap,
Wenner-Grens institut

Oponentský posudek na bakalářskou práci Jindřišky Tomáškové

**„Genetická variabilita izolovaných populací tyrfobiontní můry *Lithophane lamda*
(Lepidoptera: Noctuidae) na jihočeských rašeliništích“**

Bakalářská práce Jindřišky Tomáškové se zabývá hledáním a testováním vhodných DNA markerů, které by se daly použít pro sledování genetické variability v populacích tyrfobiontní můry *Lithophane lamda*. Tato můra je zejména rozšířená v severní Evropě, v České republice se vyskytuje jen v několika omezených lokalitách na šumavských a jihočeských rašeliništích, která představují starobylá paleorefugia a přináší tak do české krajiny prvek skandinávské přírody, který u nás zůstal zachován po ústupu ledovců doby ledové. Druh byl vybrán jako modelový pro sledování genetické variability organismu, který je ve střední Evropě vázán na specifická fragmentovaná stanoviště.

Bakalantka během svého studia testovala několik párů primerů, vybraných na základě literatury, pro amplifikaci osmi různých DNA markerů. Úspěšně naamplifikovat se jí podařily tři markery, které pak použila pro malou pilotní studii, v níž si vyzkoušela několik fylogenetických metod a použití populačně genetických statistik. Výsledky jsou trochu poznamenány menším testovaným vzorkem, zejména u lokality Jezerní slat', kde byly k dispozici pouze dva jedinci studovaného motýla. Ale přesto představují zajímavý soubor genetických markerů pro druh můry, která je zajímavá svým vzácným rozšířením v ČR a výskytem v chráněných lokalitách.

Práce je napsaná čtivě ale bohužel s vcelku významným množstvím překlepů, které se vloudily dokonce i do latinského názvu studovaného organismu, který je ve větší části práce (anglická anotace, cíle práce, výsledky, diskuze) označován nesprávně jako *L. lambda*. Překlepy se vloudily i do pár dalších latinských názvů.

Nevyhnuły se ani citacím, takže na str. 2 je nesprávně citována Janovská 1995, která se v seznamu literatury vyskytuje jako Jankovská 1995, což je správně. Na straně 37 se do citací přitoulaly iniciály křestních jmen, která se tam obvykle nepiší. Chybí mi citace pro test kongruence *Icong Congruence Test*. Referenci také postrádám u obrázku 7 – malovala ho autorka sama? Protože uspořádání genů v mitochondriální DNA nemusí být u všech organismů stejné, chybí mi informace o tom jaké mtDNA, z jakého organismu, by se měl obrázek podobat? Některé citace v seznamu literatury nebyly v textu použity. Jedna z citací (Peakall a Smouse 2012) se do seznamu nezařadila podle abecedy.

V metodice jsou na několika místech psané číselné hodnoty a jednotky dohromady bez mezery.

V tabulkách 2, 3, 7, 8, 9 a 11 jsou uvedeny zkratky, které by bylo lepší pro čtenáře vysvětlit do legendy nebo v případě zkratk pro lokality uvést do tabulky 1 k popisu původu analyzovaných vzorků.

Pro enzymy Exo I a Sap není v metodice uveden výrobce.

V metodice v kapitolách 3.3 a 3.5 pro PCR a přečišťování PCR produktů před sekvenováním je složení reakčních směsí popsáno pouze v objemových jednotkách. Do závěrečné práce je lepší než množství v μl (které se zapisuje do protokolů v laboratorním sešitě), uvádět pro jednotlivé složky finální koncentraci a to i pro enzymy. Případně by bylo dobré aspoň zmínit koncentraci použitých zásobních roztoků, protože každá laboratoř může používat trochu jiné koncentrace zásobních roztoků (komponentů reakcí).

V tabulce 2 bych uvítala i informaci o předpokládané délce amplifikovaného fragmentu, která se dá odhadnout například ze sekvencí z příbuzných druhů dostupných v databázích.

Na obrázku 10 vlevo je místo profilu markeru λ DNA/EcoRI+HindIII zobrazen nějaký jiný marker – je to vidět, že nesouhlasí s fragmenty na gelu na fotografii vpravo.

Sekvenovaly se produkty pouze jedním primerem nebo v obou směrech? Jaké to má výhody a nevýhody?

Některé anglické výrazy by se daly přeložit a používat v českém překladu – jako třeba kontrolní region mtDNA.

Není vhodné počesťovat latinské názvy jako „lepidoptery“, jak je několikrát uvedeno v diskuzi.

Pro přehlednost a lepší čtivost pro českého čtenáře by bylo vhodné sjednotit používání českého a latinského názvosloví organismů, tak jak je uvedeno v kapitole 1.6.4. Jinde se latinské a české názvy střídají náhodně vedle sebe jako „vlochyně a *Calluna*“, byť vřes je vcelku široce používaný český název.

Autorka zmiňuje, že hodnoty Fst jsou vysoké, ale nesignifikantní, tabulka 11 obsahuje pouze hodnoty Fst. Jak byla tedy hodnocena statistická významnost hodnot Fst?

Podle mého názoru mantelův test pro ND5 marker vyšel signifikantně na 5% hranici významnosti, ačkoliv se to autorka snaží zamluvit.

Některé dendrogramy jsou hůře čitelné – splývají hodnoty statistiky „bootstrap“ (který je u všech obrázků uváděn jako „bootstrap“) a krátké větve, doporučovala bych neuvádět nízké hodnoty statistiky pod 50% a obrázek dle možností roztáhnout do šířky.

V tabulce 12 jsou všechny hodnoty p pro test kongruence menší než 0,0001 přesto je autorka označila za nesignifikantní a kongruenci zamítla, ale podle de Vienne *et al.* 2007 by to mělo být naopak.

Ke členění části Úvod bych měla několik připomínek. Přechodí práce o genetické variabilitě motýlů na rašeliništích v ČR jsou zařazené do kapitoly 1.4, která nese název „Tyrfoneutrální druhy“, byť studie se tyrfoneutrálních druhů netýkají. Pomocí EPIC-PCR byly testovány i jiné geny než jen TPI, chybí mi jejich bližší popis v úvodu o markerech a vysvětlení proč byly vybrány?

Vzhledem k tomu, že předchozí studie používaly z molekulárních markerů pouze alozymy, může autorka blíže vysvětlit výhody a nevýhody proteinových a DNA markerů pro populační genetiku?

Závěrem prohlašuji, že předložená bakalářská práce Jindřišky Tomáškové splňuje požadavky kladené na bakalářskou práci a proto ji **doporučuji k obhajobě** a navrhuji známku velmi dobře (2).

Ve Stockholm, 18. 1. 2015



Mgr. Lucie Kučerová, Ph.D.

