

Posudek na dizertační práci Mgr. Jakuba Vlčka „Conservation genetics of Galápagos mockingbirds: from immune genes to genomes”

Dizertační práce Jakuba Vlčka se zabývá ochranářskou genetikou galapážských drozdců (*Mimus*) a zvláště pak vztahem mezi dopadem nízké populační velikosti na geneticky podmíněnou kapacitu odolávat patogenům. Práce je vystavena kolem základního teoretického předpokladu, že účinnost přirozeného výběru je v malých populacích klesá, zatímco míra příbuzenského křížení a dopady náhodného genetického driftu se zvětšují. Z tohoto předpokladu pak vyplývají konkrétní hypotézy o variabilitě genů podléhajících odlišným selekčním tlakům. Jejich testování bylo konkrétní náplní předložené práce.

Úvodní kapitola dobře slouží svému účelu. Přehledným způsobem postupně představuje základní myšlenkové koncepty ochranářské genetiky a jejich relevanci pro porozumění variabilitě imunitních genů. Představeny jsou zde také dva typy imunitních genů, které byly předmětem tohoto konkrétního výzkumu (MHC a TLR) a je vysvětleno jaké selekční tlaky mohou formovat jejich variabilitu a jak mohou interferovat s náhodným genetickým driftem. Představeni jsou také galapážští drozdci jakožto skupina druhů, v jejichž populacích byly popsány jevy zkoumány. Na závěr jsou jasné vytyčeny cíle práce a její členění.

Následují čtyři vědecké studie, které jsou všechny prvoautorské a tři z nich publikované v kvalitních vědeckých časopisech, což samo o sobě svědčí o kvalitách předkládané práce, pracovitosti kandidáta a jeho vůli dotahovat věci do konce.

První práce mapuje důsledky populační velikosti na diverzitu jednoho z MHC (major histocompatibility complex) genů (MHCII β). Práce byla vystavěna na kontrastu mezi kontinentálním druhem *M. polyglottus* a ostrovními populacemi galapážských druhů a rozdílech v populačních velikostech jednotlivých ostrovních populací. Jako selekčně neutrální standard pak sloužila variabilita 26 mikrosatelitových markerů. Na práci si cením pozornosti, kterou autoři věnovali různým aspektům diverzity MHC genů, což umožnilo odhalit rozdílné dopady populační velikosti na populační a individuální úrovni a poukázat na způsoby, jakými může balancující selekce ovlivňovat variabilitu imunitních genů. Testované hypotézy byly formulovány jasně, výsledky nebylo úplně jednoduché sledovat, ale závěry práce byly srozumitelné. Dvě připomínky mám ke konkrétnímu provedení testů.

- Odlišnost kontinentálního druhu bych u individuální diverzity testoval pomocí apriorního či posteriorního kontrastu či „kontinent vs. ostrovy” (srov. Pekár a Brabec 2009, str. 66-76), u populační diverzity mi v práci chyběl formální test, zda je kontinentální druh odlehlým pozorováním (outlierm) vzhledem k statistickému rozdělení ostrovních hodnot.
- V analýze proporční ztráty genetické variability bych nepoužil jako referenční bod největší populaci, protože pozorované hodnoty se mohou i u ní z různých důvodů významně odchýlovat od celkového trendu. Mediánovou hodnotu bych považoval za bezpečnější volbu. (V tomto konkrétním případě by však její použití zřejmě vedlo ke kvalitativně stejnému závěru.)

Druhá práce je jistým rozšířením práce předchozí. Navazuje na zjištění, že dopad genetického driftu není dostatečný, aby nebyl na úrovni individuální genetické variability kompenzován dopadem balancující selekce. Zde bylo pak testováno, zda je působení této selekce rozpoznatelné v individuálních rozdílech v míře parazitace. Zatímco v předchozí práci jsem se v uspořádání navazujících testů místy trochu ztrácel, zde byla struktura práce jasná a

jednoznačně vyzněl také její závěr, podle kterého byla míra parazitismu korelována s mírou imunologického stresu a přítomností specifických funkčních typů („supertypů“) alel MHCII β . Toto pozorování dokresluje závěry předchozí práce, neboť ukazuje, že individuální imunokompetence může díky přítomnosti specifických alel zůstat vysoká, i když se celková populační variabilita sníží. K práci mám jednu otázku, související s definicí funkčních supertypů.

- Jak jednoznačně byly tyto supertypy oddělené v příslušném prostoru fyzikálně-chemických funkčních vlastností? Jsou to doopravdy „jiné věci“ nebo jsou spíše kategorie vytvořené diskretizací více či méně spojitě variability?

Třetí práce se zabývá variabilitou TLR (toll-like receptor) genů a ukazuje, jak se mohou různé komponenty imunitního systému vyvíjet pod odlišným selekčním tlakem. Prezentované výsledky jednoznačně ukazují u TLR genů na stěžejní význam purifikující selekce, zatímco u MHC genů hrála hlavní roli selekce balancující. Z ochrannářského hlediska je zajímavým bodem této práce odhad populační velikosti, při které náhodný drift může převážet purifikující selekci a vést k fixaci suboptimální alelické varianty.

Poslední práce je prezentovaná v podobě manuskriptu, avšak nepochybuji o tom, že bude též publikována v prestižním časopisu, neboť na mě zapůsobila svou všestranností a promyšleným využitím celogenomových dat. Autoři v ní vytvořili referenční genom pro jednoho z galapážských drozdců a následně resekvenovali 27 genomů z devíti populací tří druhů drozdců. Těchto dat využili k odhadu jejich fylogeneze, historických změn efektivní populační velikosti a genového toku, míry příbuzenského křížení a genetické zátěže. Práce přináší poznatky, které jsou důležité z hlediska ochrannářské genetiky i fylogeografie. Na základě rozsáhlých dat potvrzuje, že genetická variabilita populace je korelována s velikostí areálu a ukazují, jakým způsobem její různé aspekty na velikost areálu závisí. Přináší též poměrně přesvědčivý scénář evoluční historie analyzovaných druhů, který vysvětluje odhadované výkyvy v početnosti populací doloženým propojením ostrovů, potvrzuje značnou izolovanost populací na oddělených ostrovech a datuje původní kolonizaci Galapág drozdci k mladšímu okraji dříve zvažovaného intervalu. Uvádím, zde nicméně několik otázek a podnětů, které by stálo za to prodiskutovat či objasnit.

- Existují srovnatelná data i pro Darwinovy pěnkavy? Dá se říci, že evoluční historie galapážských drozdců a Darwinových pěnkavy představují opačné extrémy? Ve smyslu – geografická diferenciací usedlých generalistů (drozdců) vs. ekologická diferenciací pohyblivých specialistů (pěnkav).
- Čím je *M. trifasciatus* tak jiný, že je považován za samostatný druh?
- Jak přesný je odhad předpokládané mutační rychlosti, zde převzatý ze studie na lejskovi bělokřkém. Neměla by být chyba jeho odhadu brána v potaz při kalibraci genetických odhadů, takže by např. velmi přesnému odhadu θ odpovídal méně přesný odhad N_e ?
- Uvažovali jste provést v genomických oknech o délce 100 SNP inferenci druhových stromů (např. v BPP, viz. Thawornwattana et al. 2022)? Tyto odhady přímo vztahy mezi populacemi, berou v potaz možnost rekombinace mezi lokusy, neposkytují zkrácené výsledky v tzv. anomální zóně. Na Metacentru jde tyto analýzy počítat paralelně a dokončit je tak v dohledném čase.
- Jakou analýzu přesně provádí TWISST? Z textu to není stoprocentně jasné.
- Uvažovali jste použít Relate i pro inferenci lokusů pod pozitivní selekcí? Tyto odhady by celkovém kontextu dizertační práce byly velmi relevantní.

- Bylo by dobré pokusit se o detekci lokalizovaných introgresí, které nemusí zanechat velkou stopu v celkové distribuci genových stromů a být tedy „neviditelné“ pro G-PhoCS, ale zároveň mohou být velmi důležité pro životaschopnost a adaptabilitu populací.

Celkově lze říci, že předložená dizertační práce je formálně a stylisticky dobře zvládnutá, přináší zajímavá a dobře podložená zjištění. Jednoznačně ji proto doporučuji k obhajobě. V jejím úplném závěru jsem ocenil autorovu úvahu nad smyslem investic do genetického bádání.

Více takto kvalitních dizertačních prací, více takových úvah a více prostoru pro divokou přírodu.

Ve Studenci 17. 2. 2023

Ondřej Mikula

Odkazy:

Pekár S, Brabec M. 2009. Moderní analýza biologických dat. 1. Zobecněné lineární modely v prostředí R. Scientia.

Thawornwattana, Y., Seixas, F. A., Yang, Z., & Mallet, J. (2022). Full-likelihood genomic analysis clarifies a complex history of species divergence and introgression: the example of the erato-sara group of *Heliconius* butterflies. *Systematic Biology*, 71 (5), 1159-1177.