

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Lucie Hykové „Systematika a fylogeografie diploidních zástupců druhového komplexu *Arabidopsis arenosa*.“

Předložená diplomová práce je věnována fylogeografii diploidních zástupců složitého druhového komplexu *Arabidopsis arenosa*. Za tímto účelem byla studována variabilita 14 jaderných mikrosatelitů u 64 populací jak na vnitropopulační tak i mezipopulační úrovni.

Práce jednoznačně benefituje z faktu, že byla realizována v rámci velkého projektu financovaného GA ČR a autorka měla možnost získat dostatek materiálu z celého areálu rozšíření tohoto komplexu. V rámci práce autorka nejdříve na základě pilotního pokusu vybrala vhodné markery, které následně použila na zpracování celého materiálu. Laboratorní analýzy byly provedeny správně. Vhodně zvolené jsou i metody analýzy dat, ale k jejich provedení mám několik výtek: (i) při testování markerů v rámci pilotního pokusu nebyl proveden odhad frekvence nulových alel; (ii) při testování markerů a odhadu jejich variability nebyla testována odchylka od Hardy-Weinbergovi rovnováhy. Tento test považuji za důležitý z hlediska následných analýz v programu STRUCTURE, které mohou být negativně ovlivněny zařazením populací (nebo markerů) odchylojících se od HW rovnováhy; (iii) u analýzy  $F_{IS}$  (koeficientu inbreedingu) nejsou jasně definována kritéria podle kterých jsou jeho hodnoty považovány za zvýšené a jestli se populace vyznačující jeho zvýšenou hodnotou liší signifikantně od stavu odpovídajícímu HW rovnováze; (iv) při ne zcela jednoznačném určení počtu genetických klastrů programem STRUCTURE nebyly analýzy opakovány za modifikovaných podmínek (např. z analýzy nebyly vyloučené populace se zvýšeným  $F_{IS}$  anebo nebyly vzorky rozděleny do skupin definovaných a priori).

Úvodní část práce, metodika a výsledky jsou napsány jasně, i když někdy je věnováno až příliš prostoru ne úplně relevantním tématům. Na druhé straně některé podstatné teoretické aspekty studované problematiky v úvodní části práce zcela chybí (viz. další technické poznámky na konci posudku). V diskuzi jednoznačně postrádám kapitolu věnovanou využití výsledků práce pro systematiku a taxonomii komplexu, byť práce nese pojem „systematika“ ve svém názvu. Části týkající se fylogeografie jsou sice obšírné, ale trochu nepřehledné. Snad největším zklamáním pro mě je část věnována porovnání výsledků mikrosatelitů a RAD-sekvenování. V tomto ohledu měla práce potenciál přinést mnoho opravdu nových poznatků, protože takto zaměřených a již publikovaných prací je zatím opravdu pomálu. Žel diskuze k této části je velmi stručná, omezuje se na povrchní shrnutí notoricky známých aspektů jako cena analýz anebo počet analyzovaných jedinců. Místo toho se autorka měla soustředit na přínos a limity obou přístupů pro konkrétní způsoby vyhodnocení dat a porovnat je s výsledky dalších komparativních studií (např. Jeffries et al. 2016).

I přes výše zmíněné výtky považuji výsledky práce za kvalitní a práci jednoznačně doporučuji k obhajobě. Práci hodnotím známkou 2.

## Otázky:

- 1.) Jaké taxonomické řešení byste pro komplex *A. arenosa* doporučila na základě výsledků Vaší práce?
- 2.) Není mi úplně jasné, které oblasti považujete za refugia ve kterých *A. arenosa* přežila poslední glaciál a proč. Můžete to upřesnit? Dále uvádíte, že Vaše výsledky jsou v rozporu s předchozími studii (Schmickl et al. 2012). Čím je možné tento rozpor vysvětlit?
- 3.) Na základě Vašich analýz nelze zcela jednoznačně určit původ Baltských populací. Mohla byste na základě těchto dat načrtnout možné a hlavně testovatelné scénáře jejich vzniku? Jakým způsobem byste je testovala?
- 4.) Jedním z cílů práce bylo porovnání mikrosatelitů a RAD-Seq jako markerů pro fylogeografické studie. V čem spočívají přínosy a nedostatky těchto metod pro Vaši studii? Jsou Vaše závěry srovnatelné se studií Jeffries et al. 2016\*, která porovnávala tyto metody u sladkovodních ryb, případně s výsledky dalších prací? Kterou z metod by jste zvolila pokud by ste plánovala svůj vlastní fylogeografický projekt a proč?

\*Jeffries et al. – *Molecular Ecology* (2016) 25: 2997–3018

## Ostatní technické poznámky:

Abstrakt je až příliš stručný, obsahuje sice shrnutí výsledků ale ne jejich zhodnocení formou závěrů.

## ÚVOD

s. 7. Věta: „Jedním z nejstudovanějších druhů z čeledi Brassicaceae je známý modelový druh *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Innan et al. 1997; Bennetzen 1999; Van der Zwan et al. 2000; Mitchell-Olds 2001), který je zároveň blízce příbuzný modelovému druhu *Arabidopsis thaliana*....“ nedává smysl.

## CÍLE A OTÁZKY

s. 8. Tvzení, že v práci Kolář et al. 2016 je hlavním zdrojem data metoda RAD-seq není přesné. Veškeré vnitropopulační parametry byly ve zmiňované práci získané na základě analýzy mikrosatelitů.

s. 8–9. Odstavec popisující mikrosatelity není otázkou ani definicí jednoho z cílů práce

## LITERÁRNÍ REŠERŠE

## FYLOGENEZE A FYLOGEOGRAFIE

V této kapitole chybí souhrn teorií o glaciálních refugiiích a migračních cestách v Evropě. Zahrnutí těchto teorií do úvodu by čtenáře uvedlo do problematiky, která se řeší v podstatné části diskuze.

## EVOLUČNÍ PROCESY

Není mi úplně jasné, proč byla tato kapitola do práce zařazena. Procesy, kterých se týká se práce vůbec nezabývá.

## POLYPLOIDIE

Práce se soustředí na diploidní zástupce komplexu *A. arenosa*, proč se tedy detailně řeší polyploidie v čeledi Brassicaceae?

### MOLEKULÁRNÍ MARKERY

s. 20. Molekulárním markerem může být i molekula RNA (a ne jenom DNA jak je uvedeno), proto bych volil formulaci: „Molekulární markery podávají informace o organismu, získané analýzou jeho molekul nukleových kyselin nebo proteinů.“

### RAD-seq

s. 22. „...při určité optimalizaci protokolu lze, navzdory finanční náročnosti NGS sekvenování, analyzovat velké množství jedinců a populací...“ Přivítal bych, kdyby byly ty zmíněné modifikace konkretizovány.

### ANALÝZA DAT

s. 23. Je koeficient inbreedingu opravdu počítán na základě frekvence nulových alel? Neznám software, který byl použit, ale standardně se tento koeficient počítá na základě rozdílu očekávané a pozorované heterozygoty.

### METODIKA

#### OPTIMALIZACE MIKROSATELITŮ

s. 31. Neuvádí se počet jedinců, na kterých byla testovaná variabilita markerů.

### VÝSLEDKY

Data o formování dimerů primerů bych nezmiňoval jako samostatný výsledek. Je to jenom technická, která je sice důležitá pro optimalizaci PCR protokolu, ale pro práci jako takovou žádný větší přínos nemá.

Obr. 15–17. Barvy ve výsečích a hlavních částech obrázků nejsou stejné.

### DISKUZE

s. 64. Dle textu v úvodu diskuze je jedním z hlavních cílů práce: „...a diskutovat možná taxonomická řešení pro tento komplex.“ Jenže o taxonomických řešeních není dále v diskuzi žádná zmínka.

s. 64. Tvzení, že rozdělení populací do pěti genetických klastrů je v souladu s výsledky studie Kolář et al. 2016, není úplně pravdivé. V této studii byl nejpravděpodobnější počet klastrů 4. Tato část diskuze by si zasloužila upřesnit a trochu rozšířit.

s. 65. V práci se tvrdí, že zvýšené hodnoty  $H_E$  a  $H_S$  „Baltské“ skupiny jsou dány faktem, že do této skupiny přísluší i populace ze Slovenska. Jenže podle dat uvedených v Tabulce 16 i po vyloučení Slovenských populací dosahuje tato skupina druhých nejvyšších hodnot stejně jako předtím.