

Posudek na diplomovou práci Pavla Rubíka: Chromosom Y v hybridní zóně myši

Pavel Rubík použil ve své práci novátorský přístup, studium chromozomu Y v česko-bavorském transektu hybridní zóny myši pomocí mikrosatelitů. Vzhledem k tomu, že v případě chromozomu Y zpravidla nedochází k rekombinaci, může haplotyp získaný analýzou mikrosatelitů charakterizovat konkrétní chromosom Y. To se v předkládané práci ukázalo jako dobře použitelné pro analýzu sociální struktury samců. Naopak se zvolené markery neosvědčily pro zamýšlenou analýzu historie introgrese chromozomu Y poddruhu *Mus musculus musculus* na genetické pozadí *M. m. domesticus*.

V práci se téměř nevyskytují gramatické chyby a překlepy, ale kazí ji poměrně velké množství stylisticky neobratných vyjádření a nepřesných nebo nejasných formulací. Tyto se tolik nevyskytují v kapitole Literární přehled, ale text následujících kapitol je v některých částech těžko srozumitelný. Objevují se i další formální nedostatky, které nebudu nyní detailněji popisovat, avšak všechny své připomínky jsem vyznačila v textu.

K věcnému obsahu práce mám následující připomínky a otázky. Literární přehled:

1) Neprotiřečí si výroky „Mitochondriální DNA se na rozdíl od autosomů a pohlavních chromosomů pohybuje přes hybridní zónu snadněji.“ a „Kliny pro mitochondriální markery mají podobný průběh jako pro markery na autosomech, z čehož se dá usuzovat, že mtDNA i autosomy jsou pod podobnou mírou selekce.“ (str. 13)? Který z výroků platí?

2) Autor neodděluje používání termínů „disperze“ a „migrace“ a často je používá jako synonyma (str. 18, 19 a dále). Vzhledem k tomu, že je studium disperze jedním z cílů práce, považuji za vhodné, tyto termíny definovat a odlišovat.

Materiál a metody: 3) Není jasné, kolik vzorků z kolika lokalit bylo použito v různých analýzách. Kolik vzorků bylo použito v analýzách, pro které byl počet lokalit zredukován na 90? Proč je v kapitole Výsledky (str. 27) při popisu počtu alel na lokus uvedeno 136 a ne 161 lokalit?

4) Další dva pojmy, které jsou v práci často používány jako synonyma, jsou „populace“ a „lokalita“ (str. 21 a dále). Mezi těmito pojmy by měl být jasný vztah. Již z metodiky by mělo být zřejmé, je-li skutečně možné jejich alternativní používání, tj. byla-li na vzorkované lokalitě přítomna vždy pouze jedna populace. A jak se vlastně na lokalitě pozná, jedná-li se o jedinou populaci? Jak je v tomto případě populace definována?

5) Až z kapitoly Statistické analýzy (str. 24) čtenář vytuší, že kromě zmíněných mikrosatelitů, byly analyzovány ještě další markery – nějaké (jaké se nedovídáme) na chromozomu Y a Foxp3 na chromozomu X. Dřívější a jasné uvedení této informace by umožnilo lepší porozumění. Navíc pokud je dále v textu používáno pro „nemikrosatelitové“ markery na chromozomu Y označení „markery na chromozomu Y“, není tak dobře rozlišeno mezi těmito markery a mikrosatelity na chromozomu Y, které jsou také genetickými markery.

6) V geneticko-geografické analýze v programu Geneland bylo pro markery na Y a pro Foxp3 nastaveno fixní K 2, protože vzorky pocházejí od dvou poddruhů myši domácí. Proč v případě mikrosatelitu 5036 bylo K považováno za neznámé? Respektive nebylo by užitečné vyzkoušet analýzu všech použitých markerů bez předem daného K? Nemohlo by se např. ukázat, že i pomocí markerů na chromozomu Y je možné odlišit tři oblasti hybridní zóny? Na základě popisu výsledků (kap. Výsledky, str. 30) je zřejmé, že tato analýza byla provedena i pro ostatní mikrosatelity, to ale není v metodice uvedeno. Bylo i pro ostatní mikrosatelity hledáno nejvhodnější K nebo bylo použito fixní K 2? Zkoušel jste provést tuto analýzu i se všemi mikrosatelitovými markery najednou – tedy se zadáním celého haplotypu? (str. 24, 25)

Výsledky: 7) Nemyslím, že je vhodné nazývat skutečnost introgrese chromozomu Y *musculus* na genetické pozadí *M. m. d.* jako „předpoklad“, který Vaše analýzy potvrzují; zvláště když je

potvrzují na základě stejných dat, která pro popis existence tohoto jevu již dříve použili Macholán et al. (2008, 2011).

8) Jsou v grafu na obr. 10 (str. 35) zahrnuty skutečně jen shodné haplotypy na různých lokalitách, jak se píše v popisce, když je tam znázorněno přibližně 1050 případů, a když „většina zjištěných haplotypů se vyskytuje pouze na jediné lokalitě“, jak se píše na str. 32? Kolik bylo případů, kdy se haplotyp vyskytoval pouze na jediné lokalitě a kolik, kdy na více? Vzhledem k cílům práce by bylo dobré toto jasně kvantifikovat. Není-li shodných haplotypů na různých lokalitách moc, posloužilo by dobře schéma, které by všechny tyto haplotypy a vzdálenosti mezi nimi znázorňovalo.

9) Na str. 34 stojí: „Pouze na dvou lokalitách z celkového počtu 21 se vyměnil původní haplotyp do dvou let.“ Z tabulky v příloze A ale vyplývá, že ne pro všech těchto 21 lokalit byla data z období po dvou letech. Navíc není snad možné, že by „nový“ haplotyp pouze nebyl v první sezóně zachycen?

Diskuze: 10) Mohla být vůbec zjištěna odlišná pozice hybridní zóny, když byl pro stanovení středu hybridní zóny použit stejný marker a dokonce i data jako v předchozích pracích (str. 39)? Jakou metodou určovali střed hybridní zóny Macholán et al. (2008, 2011)? Šlo v předložené práci skutečně o „identifikaci pozice hybridní zóny a introgresního trojúhelníku“?

11) Z prvního odstavce na str. 40 vyplývá, že by zjištěná nízká variabilita haplotypů v populaci mohla být důsledkem efektu zakladatele. Co by to o populacích v hybridní zóně vypovídalo?

12) Autor svými analýzami objevil jako běžný přesun myši na vzdálenost do 30 km (str. 41). Souhlasím s ním, že důvodem, proč nebyl dosud takový daleký přesun v literatuře dokládán, může být to, že dosavadní práce ve svém dizajnu s takovým přesunem nepočítaly. Přesto mám o tomto výsledku jisté pochyby. Autor sám píše (v kap. Výsledky na str. 32) „Pomíjím fakt, že v mikrosatelitech může být velké procento konvergentních mutací, kterými mohl na dvou lokalitách vzniknout stejný haplotyp.“ a v diskuzi analýzy introgresní oblasti na str. 42 píše dokonce „Variabilita mých mikrosatelitů je poměrně vysoká, proto předpoklad, že se díváme na velmi malou časovou škálu silně ovlivněnou zpětnými mutacemi, získává na významu.“ Přesto v diskuzi už konvergentní mutace jako jedno z možných vysvětlení zjištění daleké disperze neuvádí. Vzhledem k převratnosti tohoto výsledku by určitě bylo dobré diskutovat všechna možná vysvětlení poměrně detailně. Napadá mě, nemohl-li popisovaný stav (shodné haplotypy ve velké vzdálenosti) nastat také postupným šířením daného haplotypu a jeho následným vymizením pouze z některých populací. Co myslíte?

13) Ještě jednou prosím vysvětlíte, proč myslíte, že vaše „výsledky naznačují, že k nedávné expanzi chromosomu Y nedošlo“ (str. 42). V abstraktu se píše, že příliš velká variabilita použitých markerů znemožňuje odhalení platnosti teorie intragenomického konfliktu prostřednictvím studia historie introgresní oblasti. V diskuzi této problematiky se také uvádí, že Mantelův test nevyšel příliš přesvědčivě, přestože p bylo $\square 0,002$. Proč to, že si mohou být podobné i vzdálené lokality vylučuje rychlou expanzi? Co přesně chcete říct větou: „Variabilita mých mikrosatelitů je poměrně vysoká, proto předpoklad, že se díváme na velmi malou časovou škálu silně ovlivněnou zpětnými mutacemi, získává na významu.“? K čemu se vztahuje „malá časová škála“?... Text diskuze analýzy introgresní oblasti (4.-8. věta na str. 42) je nesrozumitelný. Samotnou mě překvapuje, proč pokud byla mezi populacemi potvrzena *isolation by distance*, nebyla ze stromů patrná nějaká interpretovatelná struktura. Zkoumal jste, zda jsou si lokality v jednotlivých klastrech např. geograficky blízké, přestože nepocházejí ze stejné oblasti? Jakou roli mohl hrát v analýzách fakt, že vzorky pocházeli z poměrně dlouhého časového období?

Pavel Rubík zgenotypoval téměř tisíc jedinců myši domácí; pro téměř sedm set jedinců pak získal kompletní haplotyp na šesti mikrosatelitových lokusech. Získaná data dále analyzoval způsobem, který je adekvátní kladeným otázkám. Hodnotu samotné práce považuji za

vysokou, neboť je originální a přinesla zcela nové poznatky, co se týče sociální struktury samců myši domácí a zřejmě také vzdálenosti myší disperze. Dále jeden z testovaných markerů se ukázal jako diagnostický pro postihnutí složité struktury hybridní zóny, což může mít velký praktický význam. Hodnotu psaného textu poněkud snižuje nedostatečně jasná formulace těchto výsledků. I přesto však autor určitě splnil požadavky kladené na kvalitu diplomových prací.

V Náměšti nad Oslavou 11. 9. 2011

Mgr. Barbora Zemanová

