



RNDr. Iva Vrbová, Ph.D.
Laboratoř molekulární cytogenetiky
Ústav molekulární biologie rostlin, BC AVČR, v.v.i.
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
Telefon: (+420) 387 775 511
Fax: (+420) 385 310 356
E-mail: ifukova@umbr.cas.cz

Posudek bakalářské práce Marharyty Trehubenko: Analýza pohlavních chromosomů kropenatce jetelového (*Chiasmia clathrata*) (Lepidoptera, Geometridae)

Ve své bakalářské práci se Marharyta Trehubenko věnuje cytogenetice píďalky kropenatce jetelového, *Chiasmia clathrata*. Píďalky jsou druhově bohatou čeledí s dynamickým vývojem pohlavních chromosomů. Jednou z píďalek, kde pravděpodobně došlo ke ztrátě pohlavního chromosomu W, je tento dosud málo probádaný druh.

Členění práce je klasické na Úvod, Cíl práce, Materiály a metody, Výsledky, Diskuzi, Závěr a Použité zdroje. Jednotlivé části jsou vyvážené a v dostatečném rozsahu. V úvodu autorka nabízí pěkný přehled dosavadních poznatků o pohlavních chromosomech motýlů a jejich evoluci a možných cytogenetických nástrojích jejich studia. Postrádám zde však zmínku o fylogenetickém zařazení zkoumaného druhu a jeho biologi.

Cíle práce jsou nastíněny stručně a jasně. Pouze v posledním bodě je zřejmě překlep a místo „způsobeném“ by v textu mělo být pravděpodobně „působením“.

Materiál a metody jsou popsány podrobně a pečlivě. V popisech se vyskytuje jen malé množství nepodstatných chyb. Měla bych následující připomínky a dotazy:

- V kapitole 3.1. na str. 12 chybí roky sběru samic v ČR.
- V kapitole 3.2.1. na str. 12 je uvedeno, že preparát byl „přidán“ na histologickou plotýnku. Vhodnějším výrazem by zřejmě bylo „přenesen“ či „přendán“.
- Ze kterého vývojového stadia kropenatce byla izolována genomová DNA (kap. 3.3.1)?
- V téže kapitole je na str. 14 rozepsána příprava extrakčního pufru do přílišných detailů.
- Rovněž zbytečné podrobnosti jsou v popisu principu fungování komparativní genomové hybridizace v prvním odstavci kap. 3.3.3. na str. 15. Zde jsou tyto informace nadbytečné, zejména proto, že je genomovým hybridizacím věnována celá jedna kapitola Úvodu.
- Na str. 16 téže kapitoly vypadl údaj o koncentraci RNázy A pro předpůsobení skel.
- Ověřovala autorka velikost fragmentů kompetitorové samčí DNA (kap. 3.4. na str. 17)?

Výsledky jsou velmi pěkně zdokumentované a poměrně dobře popsány, ale přesto bych chtěla požádat o několik upřesnění:

1) Na obr. 3 na str. 19 je pod písmenem d ukázáno jádro samce z rodiny CZ-18-02. Tato rodina ale zcela chybí v přehledné tabulce na následující straně (tab. č. 4). Proč zde není tato rodina uvedena? Byl to jediný testovaný exemplář z této rodiny?

2) K tab. č. 4 na str. 20 mám ještě další dotazy:

- Kolik jedinců z každé rodiny bylo testováno na přítomnost pohlavního chromatinu?
- Lze nějak vyhodnotit poměr pohlaví potomků v těchto rodinách?
- Co to znamená „variabilní sex chromatin“? Je uveden u tří rodin z r. 2018, a to CZ-F01, 03 a 12. Nespadala by do této skupiny náhodou i rodina CZ-F18-14, jejíž fragmentované pohlavní tělísko je prezentováno na obr. 3b?
- Poněkud matoucí je také to, že zkratky použité k označení rodin se liší v tabulce a v textu kapitoly.

3) K výsledkům kap. 4.2. by bylo vhodné vložit tabulku či ještě lépe sloupcový graf s počty chromosomů u jednotlivých rodin. Z uvedených údajů se mi zdá počet analyzovaných mitotických jader nízký. U meiotických figur pak tento údaj zcela chybí. Proč byly pro zjišťování počtu chromosomů vybrány rodiny CZ-18-01 a 03, když v tab. č. 4 je uvedeno, že jejich sex chromatin je variabilní?

4) Proč nebyla vybrána ke zkoumání počtu chromosomů jiná rodina, když se ukázalo, že jediná rodina bez pohlavního chromatinu použitá k počítání chromosomů nese Wolbachii (a tím pádem některé samice mohou být genetičtí samci)?

5) V legendě k obr. 4 a, b by bylo vhodné uvést počet chromosomů v daném jádře. Dále je v textu kapitoly na tento obrázek chybně odkázáno jako na obr. 2.

6) Lišily se počty bivalentů v jádrech samic CZ-F19-04 a 08? Uvedené rozpětí 30-32 zahrnuje veškeré jaderné elementy, včetně případných univalentů a B-chromosomů? Kolik bylo odečteno jader?

7) V popisu meiotických preparátů ze samice CZ-F18-03 je odkazováno na obr. 4. Tam ale žádné takové jádro ukázáno není.

Své výsledky autorka řádně diskutuje a navrhuje další možný postup řešení. Chtěla bych se pouze zeptat na to, jak se lišily samičí celogenomové sondy použité pro CGH a GISH. V diskuzi autorka píše, že nezdar CGH zřejmě spočíval v nedostatečně kvalitní samičí sondě. Naopak při GISH samičí sonda chromosom W úspěšně identifikovala. Dále pak z jakých vzorků by autorka připravila malovací sondu na pohlavní chromosom W?

V textu práce je řada chyb a překlepů, včetně několika hrubých chyb. Vzhledem k tomu, že je práce napsaná v minimálně třetím jazyce slečny Trehubenko, bych to ale nepovažovala za tak závažné. Často jsou však porušována pravidla sazby, kdy se zejm. předložky a jednopísmenné spojky dostávají na konec řádky. Někdy jsou koncem řádky oddělené také číselné hodnoty a jednotky, případně znaménka. U obr. 6 v kap. 4.3. na str. 24 bych ještě opravila spíše anglické pořadí slov ve spojení „PCR produkty“ na české „produkty PCR“.

Několik málo chyb je též v přehledu použité literatury na konci práce. Upozornila bych jen na dvě položky: V práci Chebbi et al. (2019) se nějakým způsobem na konci názvu práce ocitl Mohamed a dále v práci Fuková et al. (2007) je poslední autor rozepsán jako František M. místo správného Marec F.

Celkově je předkládaná práce poměrně zdařilá a dobře a pečlivě zpracovaná a přináší nové výsledky, na které bude možné navázat v dalším studiu a které budou v budoucnu jistě součástí odborné publikace. Bezpochyby je vhodným podkladem k úspěšné obhajobě bakalářského titulu autorky, Marharty Trehubenko.

České Budějovice 17. 1. 2020


Iva Vrbová