

Oponentský posudek na diplomovou práci Renaty Kružíkové

Analýza pohlavních chromozomů u vybraných druhů rodu *Orthosia*
(Lepidoptera)

Diplomová práce Renaty Kružíkové se zabývá bližším prozkoumáním pohlavních chromozomů úzce vymezené skupiny můr, a to jarnic rodu *Orthosia* (čeleď Noctuidae). Jak autorka ve své práci uvádí, pilotní studie u jarnice hladké (*Orthosia gracilis*) z 70. let minulého století odhalila absenci sex chromatinu a také nižší diploidní počet chromozomů u samic oproti samcům. Tato zjištění vedla k dlouholeté spekulaci, že by se mohlo jednat o konstituci pohlavních chromozomů Z0/ZZ, tedy samic postrádajících jejich typický W chromozom. A tedy o jev u skupiny Ditrysia vzácný a potenciálně velmi zajímavý z hlediska studia jejich mechanismu určení pohlaví.

Renata Kružíková se proto ve své práci zaměřila na prostudování pohlavních chromozomů u celkem pěti druhů jarnic a jejich blízké příbuzné můry ozdobné (*Perigrapha i-cinctum*). K tomuto účelu zvolila pestrou paletu metod: vyšetřila sex chromatin v polyploidních jádrech malpighických trubic, připravila mitotické a meiotické chromozomy k určení diploidního počtu chromozomů, na něž pak aplikovala metody CGH a GISH s jasným cílem označit W chromozom v komplementu, a hybridizovala telomerické a ribozomální sondy metodou FISH; navrch ještě proměřila velikost genomu obou pohlaví a na základě pěti lokusů sestavila fylogenetický strom studovaných druhů. O vhodnosti použitých metod a jejich perfektním zvládnutí není pochyb, výsledky jsou kvalitní a vhodně prezentované. Oceňuji, že autorka v textu jasně označuje, kdy se jedná o její práci a kdy o pomoc od dalších kolegů (ať už v přípravě sondy nebo obsluze cytometru zkušeným odborníkem).

Z formálního hlediska je práce standardní délky i členění, text je uspořádán logicky, čtivě napsaný, s minimem překlepů. Množství použité literatury je přiměřené a zdroje jsou citované správně.

Práci považuji za zdařilou, mám několik připomínek a **pár doplňujících otázek:**

- Z hlediska počtu a různorodosti experimentů je práce perfektní a jasně dokládá odborný růst autorky, škoda že úvodní část diplomové práce pojednávající o pohlavních chromozomech je poměrně krátká a nejde hlouběji. Pohlavní chromozomy a determinace pohlaví je stále velmi živé téma, v posledních letech bylo publikováno několik pěkných review ale i nových hypotéz, které by stály za zmínku. Autorka se také mohla více věnovat tématu diferenciaci a degeneraci pohlavních chromozomů, neboť to úzce souvisí s použitelností metod CGH a GISH sloužících k jejich odhalení.
- Z textu je patrné, že autorka tématu dobře rozumí, přesto by bylo vhodné některé výroky více rozvést. Aby i čtenáři, který se nezabývá přímo cytogenetikou, bylo jasné, proč tomu tak je. Příkladem může být B chromozom – v práci několikrát zmíněn, ale bez podrobnější charakteristiky. Podobně není například zprvu jasné, proč jedním z dílčích cílů bylo měření velikosti genomu.

- V metodice průtokové cytometrie postrádám informaci o velikosti genomu zvolených standardů.
- **Proč byly metodou PCR testovány další geny/lokusy, když se nakonec vybraly jen ty už známé z předchozích publikací? Nezkoušela autorka některý z nich zařadit do fylogenetické analýzy?** Mohlo by to pomoci lépe podpořit sesterskou pozici druhů *O. cruda* a *O. gothica*.
- Napříč textem by měla být dodržena posloupnost. Např. v metodice je příprava preparátů z malpighických tubic v pořadí druhá, ve výsledcích je komentována hned na začátku. Obrázek 3 je popisován dříve než Obrázek 2 a následující věta (totiž že snímky polyploidních jader jsou zobrazené na Obrázku 2 a 3) by bylo vhodné uvést už na začátku odstavce nikoliv na jeho konci. Domnívám se, že u Obrázku 2g,i by bylo vhodnější uvádět taktéž měřítko 10 µm místo 20 µm.
- U telomerické FISH autorka píše, že může pomoci odhalit fúze. Nicméně v tomto ohledu dále nekomentuje získané výsledky. **Podařilo se zachytit nějaké intersticiální telomerické signály (například u neo-W nebo u mnohokrát fúzovaných chromozomů *O. gracilis*)?**
- V diskuzi autorka uvádí, že sex chromatin pozorovaný v některých polyploidních jádrech samic i samců *O. gracilis* a *O. incerta* může být tvořen kopii B chromozomu. **Zaznamenala autorka nadpočetný chromozom v mitózách či meiózách těchto druhů?**

Stanovené cíle diplomové práce byly splněny. Autorka nejenže objasnila spekulativní závěry předchozích studií, ale přinesla nové poznatky u dalších druhů čeledi Noctuidae.

Práci jednoznačně doporučuji k obhajobě.

V Praze 16. května 2023

Mgr. Marie Altmanová, Ph.D.

Katedra ekologie
Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova
Viničná 7, 128 43 Praha 2

Laboratoř genetiky ryb
Ústav živočišné fyziologie a genetiky
Akademie věd České republiky
Rumburská 89, 227 21 Liběchov

