

Posudek oponenta diplomové práce

Autor práce: **Bc. Aneta Pilíková**

Název práce: **Vývoj molekulárních markerů pro určení pohlaví u předitky brslenové (*Yponomeuta cagnagella*)**

Školitel: **RNDr. Petr Nguyen, Ph.D.**

Komentář:

Diplomová práce Bc. Anety Pilíkové nazvaná „Vývoj molekulárních markerů pro určení pohlaví u předitky brslenové (*Yponomeuta cagnagella*)“ je kvalitně zpracovaná a splňuje všechny náležitosti kladené na tento typ práce.

Přestože jako celek je práce po formální i jazykové stránce pečlivě vypracována, některé latinské zkratky a slovní spojení by měly být uvedeny kurzívou (např. *et al.*, *in silico*).

V experimentální části je detailně popsán postup jednotlivých kroků. Velmi kladně oceňuji zpřístupnění všech použitých skriptů na platformě Github, které jsou tímto k dispozici široké, nejen vědecké komunitě.

Autorka práce prokázala schopnost dosáhnout slibných výsledků a také je správně interpretovat. I přesto, že cíle práce byly naplněny jen částečně, jak sama autorka píše v závěru, je práce velmi metodicky bohatá jak po stránce bioinformatické, tak molekulárně biologické. Při práci se naučila využívat a taky vhodně použít mnoho bioinformatických nástrojů. Práce splňuje zadané cíle a doporučuji ji k obhajobě.

V souvislosti s obhajobou diplomové práce bych autorce položil následující dotazy:

1. Pomocí metody YGS byly získány unikátní samičí k-mery. Je zajímavé, že i přestože byly tyto k-mery filtrovány na repetice (bitové pole R, a použití RepeatMaskeru), tak výsledné potenciální markery, které byly testovány jsou repetitivní sekvence. Jsou tyto repetitivní sekvence W specifické? Případně jak si tuto skutečnost vysvětlujete?
2. Kolik finálních fragmentů spadá do genů, případně jsou v blízkosti W specifických oblastí či kontizích nějaké geny, které by se daly využít pro vývoj markerů?
3. Zkoušeli jste sekvenovat vybrané PCR produkty, zda neobsahují mezi samčími a samičími sekvencemi nějaké rozdíly (např. SNP, kde by se dala využít CAPS PCR)?
4. Zkoušeli jste pro vytvoření referenčního genomu i hybridní skládání dlouhých a krátkých čtení, případně pro „polishing“ dlouhých readů využít krátké čtení z Illumina sekvenátoru? Je vzhledem k chybovosti Oxford Nanopore sekvenování 17x pokrytí genomu dostačující?
5. Neuvažovali jste pro identifikaci markerů využít i RNA sekvenování (nástroje LinkYX či Sexdetector) hojně využívané při identifikaci pohlavně vázaných genů u rostlin (např. chmel, konopí, silenka ...)? A dále využít nástroj Chorus2 určený pro navrhování unikátních oligo sond specifických na vybrané oblasti pro tzv. oligopainting?

6. Myslíte si, že by bylo možné pomocí k-mer analýzy či jiným způsobem identifikovat specifický marker pro samčí pohlaví (Z chromozom)?
7. Jakým směrem by se měla/mohla práce dále ubíhat a jaké další metody plánujete využít pro identifikaci molekulárních markerů pro určení pohlaví?
8. Uvažujete o publikování získaných výsledků?

Závěr:

Práci doporučuji k obhajobě.

V Brně dne: 16. 5. 2023

Ing. Radim Čegan, Ph.D.

Biofyzikální ústav AVČR, v.v.i.
Oddělení vývojové genetiky rostlin
Královopolská 135, 612 00 Brno