

Oponentský posudek na diplomovou práci

Autor diplomové práce: Bc. Jaroslava Javůrková

Název práce: Průtoková cytometrie v biosystematice hmyzu

Když mi bez předchozí domluvy přistála kopie diplomové práce v e-mailu s poděkováním za přijetí oponentury, tak jsem vlastně ani „nemohl“ odmítnout. Měření obsahu DNA hmyzu byla, je a pravděpodobně i nadále bude mojí srdcovou záležitostí, takže jsem se na nějaké to čtení o nových magnificentních velikostech genomů vysloveně těšil.

Tématicky se práce zabývá velikostí genomu hmyzu ze skupiny Polyneoptera a doplňuje mozaiku současných znalostí o úctyhodných 49 nových záznamů. Byly analyzovány druhy nejen z České republiky, ale i jižní Evropy, Afriky a Asie. Co se nepodařilo nasbírat v terénu bylo pořízeno od chovatelů, což je velmi často absolutně podceňovaný zdroj velmi zajímavého materiálu.

Bohužel, zpracováním mě práce nijak výrazně neohromila. Text je psaný místy dost familiárně, nešikovně až nelogicky, vyskytují se špatné koncovky taxonů, chybné odkazy na obrázky a tabulky. Třešničkou je nejednotné formátování seznamu literatury. V úvodu se často míchají botanické a zoologické aspekty měření velikosti genomu, což obvykle nelze tak jednoduše generalizovat. Místy je text až moc zkratkovitý a tak jsem si musel v těchto pasážích přesný význam dost domýšlet.

Již abstrakt je takový ne příliš atraktivní a zkratka Mpb by měla být spíše Mbp, ale vzhledem k tomu, že se pak dále vůbec nepoužívá by letmá zmínka někde v Úvodu zcela postačila. Velikost genomu je DNA, jež obsahují gametické buňky? Toto spíše charakterizuje 1C hodnotu a vyjádření jako jedna sada chromosomů by bylo možná vhodnější (nezapomínejme na heterogametické pohlaví).

Úvod obsahuje obecné informace o velikosti genomu, průtokové cytometrii, standardech a pak ne zcela vyrovnanou část taxonomie analyzovaných řádů Polyneoptera. Nechápu tedy proč je zde na Obrázku 3 převzat neaktuální kladogram, když v kapitole Škvoři jsou aktuální vztahy popsány jinak. Příliš koncentrovanou taxonomií, zejména u Orthoptera, by odlehčil třeba nějaký zjednodušený kladogram.

Metodická část popisuje zkoumaný materiál a postup přípravy vzorku pro průtokovou cytometrii, nicméně popis přípravy jednotlivých roztoků by mohl být podán detailněji. Podle tohoto návodu by roztoky nikdo nenamíchal. Podle standardu *Solanum pseudocapsicum* byly údajně kalibrovány ostatní standardy, nicméně v Tabulce 3 jsou uvedeny hodnoty nekalibrované a nikde není zmínka jak výsledné hodnoty po kalibraci vypadaly.

Kapitola Výsledky, ač obsahuje velmi zajímavá čísla (obsahy DNA) k jednotlivým druhům, tak neobsahuje vlastně vůbec nic. Většina výsledkového textu se nějak pokoutně vytratila do kapitoly Diskuze a nechala za sebou jen opuštěné tabulky bez vysvětlivek (napsat vysvětlivky centralizovaně na začátku pro všechny tabulky není příliš šťastné, protože každá tabulka/obrázek by měla být schopná stát samostatně jen s popiskou a dávat jasný smysl). Přijde mi jako ohromná škoda nedourčit vzorky alespoň do rodu či čeledi, o to více když v Čechách působí přední odborník (nejen) na Orthoptera a Dermaptera kolega Petr Kočárek. Ostatně měření jednoho ze škvorů s neznámou determinací do čeledi, neznámého druhu a neznámou lokalitou mi přijde spíše úsměvné. Nevím jaký je rozdíl mezi neznámou lokalitou a chovem Mgr. Petra Másla či Mgr. Petra Šípka, Ph.D. Použití směrodatné odchylky mi přijde také dost zvláštní když byl každý vzorek měřen „jen“ dvakrát, koeficient variability (CV) by

byl zcela dostačující a asi i výrazně vhodnější. Pohlaví lze u škvorů lehce určit morfologicky, nicméně v Tabulce 4 není rozlišeno (obdobně mi přijde zbytečně moc otazníků v Tabulce 10 s kobylkami, nebo to byly všechno nerozlišitelné larvy nižšího instaru?). U strašilek jsou ve výsledcích 3 mysteriózní tabulky s příslibem vysvětlení v Diskusi. Nakonec to autorka asi nevydržela a poodhalila jejich význam v následující kapitole Orthopetra. Nepochopitelný je i výběr fotografií. Už v úvodu jsme konfrontováni A4 fotografií škvora *Forficula smyrnensis*, který je pro vlastní diplomku zcela irelevantní. Dále jsou zde fotografie strašilek *Heteropteryx dilatata* a čtyřech druhů sarančí. Fotky kolegy Šípka jsou opravdu zdařilé, kdyby se trochu zmenšily a složila se tabla, třeba s 2x3 obrázky, mohli bychom vidět třeba i nějakou kobylku, kudlanku či snovatku.

S diskutováním autorka výrazně šetří a většinu kapitoly Diskuse jsou převážně uprchlé výsledky z předchozí kapitoly. Patrně nejlepší diskuse se vyskytuje v nejmenší kapitole kam spadá jeden nově změřený druh termita. Když už se autorka pokusí o nějaké srovnání, tak téměř výhradně s online databází i když na konci sama uzná, že v ní chybí aktuální publikace. Ze tmy pak na nás vyskočí tabulka, která se patrně snaží srovnat obsahy DNA s velikostí těla vybraných druhů Orthoptera. Zda autorka druhy měřila, či jsou data převzata z literatury nikde není napsáno a s tabulkou se vlastně ani nijak dále nepracuje. Rozdíly mezi pohlavími vycházely stabilně s vyšší hodnotou DNA pro samice, nicméně absolutní rozdíl obsahu DNA mezi pohlavími je dost zavádějící. Při srovnání druhů bych používal výhradně relativní rozdíl v procentech, protože větší genomy budou mít automaticky vyšší rozdíl mezi pohlavími. Grafy by byly mnohem lepší ve formě box plotů (případně nějaký ten bodový graf), které se také v publikacích běžně používají, sloupcové grafy jsou pro účely předkládané diplomové práce zcela nevhodné. Je přímo monumentální škoda, že autorka na závěr neporovná velikosti genomu jednotlivých řádů Polyneoptera. Celkový charakter práce k tomu přeci úplně vybízí.

Závěrem bych to shrnul následovně: Vlastní nové velikosti genomů jsou vážně parádní, ale jsou zabaleny do velmi odpudivě zpracovaného balastu. Bohužel nejsem přívržencem kvapně práce, protože všichni víme, jak to s takovou prací dopadá.

Navržená známka: 3-4

Otázky:

- 1) Chtěl bych se zeptat, jak je to s tím haplo-diploidním systémem XX/X0 u švábů ze strany 51. Kde jinde se ještě vyskytuje?
- 2) S tím je spojena i druhá otázka. Co si myslíte, že je nejdůležitější faktor, který umožní rozlišení pohlaví jen pomocí analýzy průtokovým cytometrem?
- 3) Rozdíl 74 % mezi pohlavími u *Dares philippinensis* jste dále nějak řešila? Měření s jiným standardem, jinou barvičkou - DAPI, analýza chromosomů ...
- 4) Teď trocha metodických dotazů. Zkoušela jste porovnat barvení vzorků DAPI a propidium jodidem? Případně zkoušela jste měřit fixovaný či sušený vzorek? Lišily se nějak systematicky čerstvé a mražené vzorky?

RNDr. David Sadílek, Ph.D.

Praha 24.5. 2023