

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: František Marec
	Datum: 11.9.2013
Autor: Klára Jílková	
Název práce: Evoluce vybraných karyotypových znaků u tetrapulmonátních pavoukoců	
Cíle práce V práci jsou definovány tyto 3 základní cíle: (1) lokalizace organizátorů jadérek pomocí molekulární sondy pro rDNA a srovnání distribuce tohoto znaku u pavoukoců; (2) lokalizace a distribuce telomerických sekvencí DNA u pavoukoců; (3) identifikace pohlavních chromosomů metodou CGH s cílem přispět k pochopení jejich evoluce.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 87 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO Je napsán srozumitelně? ANO Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO pro zdroje; NE pro správnost citování a velký počet citací v textu chybí v Seznamu literatury	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito? 13 Jsou metody srozumitelně popsány? ANO	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO Je dokumentace výsledků dostačující? ANO Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO	
Diskuze: Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO	
Závěry (Souhrn) : Jsou výstižné? ANO	
Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): Diplomová práce je velmi dobře a čtivě napsána a má vysokou slohovou i odbornou úroveň. Navzdory svému značnému rozsahu obsahuje minimum překlepů a drobných formálních nedostatků. Úvodní část je vhodně doplněna převzatými obrazovými ilustracemi včetně	

kladogramů dokumentujících fylogenetické vztahy mezi studovanými skupinami pavoukoců. Přehledné tabulky a vesměs vysoce kvalitní a jasně popsané mikroskopické snímky přesvědčivě dokládají dosažené výsledky práce. Názornými ilustracemi je doplněna i diskuse.

Bohužel, formální kvalitu diplomové práce snižuje absence 81 prací citovaných v textu v Seznamu literatury. Zvláště na stranách 22-26 téměř všechny citované práce v Seznamu literatury chybí. U několika dalších citovaných prací jsou nesrovnalosti typu chybějící rok či nesprávný formát citování. Ve vlastním Seznamu literatury je nejednotný formát citací (např. víceslovné názvy jsou obvykle zkracovány, ale v některých případech vypsány celé; jindy u víceslovných názvů časopisů jsou jednotlivá slova malým písmenem) a též několik překlepů a drobných formálních chyb. Publikace Azzalin et al. (1997) není citována v textu.

Upozorňuji ještě na několik drobných formálních nedostatků v textu:

- průběžně v textu: zkratky se neskloňují (NOR, NORy, NORů);
- str. 12: místo Obr. 2 je uveden Obr. X;
- str. 18: k NOR a struktuře rDNA má být odkaz na Obr. 5, nikoliv na Obr. 6;
- str. 40: číslování obrázků je posunutě - místo odkazu na Obr. 11 má být odkaz na Obr. 13 (řádek 2), místo Obr. 12 má být Obr. 14 (řádek 4) a místo Obr. 13 má být Obr. 15 (řádek 9);
- str. 55: věta „Metodou C-pruhování byl odhalen konstitutivní heterochromatin, který se většinou nacházel (viz obr. 33).“ je nedokončená;
- s. 73: v textu chybí odkaz na Obr. 48;
- s. 75: southernova hybridizace se píše s velkým „S“.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Definované cíle práce byly jednoznačně splněny a byly získány originální výsledky, které významně přispívají k pochopení evoluce karyotypů pavoukoců a které jsou podkladem pro 1-2 kvalitní publikace.

Srovnávací analýzy karyotypů celkem 17 vybraných druhů pavoukoců podpořily hypotézu o ancestrálním vysokém počtu jednoramenných chromosomů a evolučním trendu redukce počtu spolu se zvyšujícím se počtem dvouramenných chromosomů.

Zavedení metody FISH podstatně přispělo k poznání bližší struktury karyotypů pavoukoců. Konkrétně autorka pomocí rDNA-FISH zmapovala distribuci klastrů rDNA (čili NOR) u studovaných druhů a její výsledky podpořily hypotézu o původním jediném páru autosomů nesoucích NOR a následném zmnožení u některých druhů/skupin pavoukoců. Pomocí FISH s telomerickou sondou autorka prokázala, že podobně jako u jiných skupin členoců jsou jejich telomery tvořeny tzv. „hmyzí“ repeticí TTAGG s publikovanou výjimkou pavouků, kde navíc prokázala absenci motivu i u dosud nestudované větve sklípkošů.

Velmi oceňuji úspěšné zavedení a využití metody CGH pro studium stupně molekulární diferenciaci, s jehož pomocí byly u dvou druhů odhaleny i systémy určení pohlaví se zmnoženými pohlavními chromosomy, jak typu XY_1Y_2 tak typu X_1X_2Y .

V závěrečném hodnocení bych chtěl zdůraznit, že předložená diplomová práce patří svým rozsahem a odbornou kvalitou k nejlepším studentským pracím, které jsem kdy oponoval. O to víc mě mrzí poměrně vážné formální nedostatky ve zpracování Seznamu literatury. Dlouho jsem přemýšlel, jak se k těmto nedostatkům postavit. Po důkladném zvážení jsem se rozhodl upřednostnit obsah práce, tudíž vysokou odbornou úroveň a originalitu, před formou. Doporučuji práci k úspěšné obhajobě a navrhuji ji hodnotit stupněm výborně.

Otázky a připomínky oponenta:

(1) Postrádám koncentrace roztoků pro metody FISH a CGH (často je kromě složení uvedeno pouze množství jednotlivých komponent), též informace u rDNA-FISH o 1 μ L sondy neříká vůbec nic o její koncentraci, která je podstatná jak pro posuzovatele, tak i pro čtenáře.

(2) Ve srovnání s literaturou bylo u CGH použito zbytečně velké množství sondy (1 μ g) – přitom byly sondy detekovány protilátkami, takže by postačovala i desetina sondy na jeden preparát. Podobně zbytečně velké množství bylo použito u DNA kompetitora (10-20 μ g) a blokující DNA (spermie lososa – 100 μ g).

(3) Na Obr. 14, znázorňujícím CGH na samičím preparátu u *Paraphrynus aff. mexicanus*, jsou vidět slabší, ale zřetelné hybridizační signály na všech koncích mitotických prometafázních chromosomů. Jak si tyto signály vysvětlujete?

(4) Dle čeho poznáte oblasti chromosomů X₁, X₂ a Y v meiotickém trivalentu u sklípkoše *Liphistius* sp.nov.? Např. na Obr. 42 a 44? Možná by bylo vhodné v těchto případech doplnit obrázky schématickým nákresem trivalentu, podobně jak jste to udělala na Obr. 46 u sklípkana *Pholcus phalangioides*.

(5) V diskusi na str. 75 správně uvádíte, že k detailnějšímu studiu intersticiálních repetice by bylo třeba využít citlivější metody. Znáte nějakou takovou metodu?

(6) Potěšilo mě, že vaše výsledky FISH s telomerickou sondou potvrdily naše výsledky o absenci tzv. „hmyzí“ telomerické repetice u pavouků. Napadá vás nějaký postup, kterým by šlo zjistit dosud neznámé složení DNA telomer pavouků?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

