Posudek na bakalářskou práci Evy Šochové **Intracelulární symbionti krevsajících dvoukřídlých skupiny Hippoboscoidea**.

Předkládaná bakalářská práce má celkem 39 stran textu, následovaných přílohami a úctyhodnými 20 stranami literárních pramenů! Práce se skládá ze dvou částí, z nichž každá by sama o sobě v zásadě (a po úpravách) vydala za plnohodnotnou práci. První je rešerše představující problematiku symbiotických bakterií u hmyzu a podrobněji pak modelovou skupinu Hippoboscoidea a její hlavní bakteriální symbionty. Druhou tvoří experimentální část, ve které se autorka snažila vytvořit robustní fylogeneze hostitelů a jejich symbiontů, které by posloužily jako základ pro rekonstrukci evoluce symbiózy u Hippoboscoidea.
Přiznám se, že nejsem expertem na tuto problematiku, takže jen těžko mohu posoudit úplnost a relevantnost uvedených údajů. Nicméně, rešerše je psaná poměrně slušnou češtinou, s minimálním množstvím pravopisných chyb a překlepů (zásadnější výtky jsou uvedeny níže). Je také poměrně obsáhlá a bohatá na informace a jak jsem již uvedl výše, po mírném rozšíření by, dle mého názoru, mohla být obhájena jako samostatná práce.
Druhá, experimentální, část je mi tematicky přece jen bližší, proto bude i můj komentář a připomínky detailnější. Hned na začátek je třeba říci, že vytýčené cíle se nepovedlo zcela splnit. Myslím si ale, že to ani nebylo v možnostech autorky a nijak to nesnižuje kvalitu práce. Po metodické stránce tuto část autorka bezesporu zvládla. A to jak základní metodiku izolace DNA, PCR a sekvenace, včetně následného skládání kontigů, tvorby alignmentu, tak i „vyšší dívčí" v podobě jednoduché fylogenetické analýzy či anotace mitochondriálního genomu. Autorka se během řešení práce rozhodně nenudila, je vidět že odvedla kvantum práce a hlavně, že jej odvedla dobře, bez zásadnějších chyb. Popis metodiky je sice tradičně nafouklý o některé zbytečné detaily, které jsou uvedeny v manuálech příslušných produktů a metodikách nesčetných bakalářských prací, ale v tomto případě to někde dává i smysl (podmínky PCR u obtížně amplifikovatelných sekvenší symbiontů). Na druhou stranu, někde obšírnější vysvětlení vyloženě chybí (například motivace a detaily použití Gblocks). Škoda jen, že autorka nevěnovala stejnou pozornost i prezentaci výsledků, která mi přijde vyloženě odfláknutá (viz níže) a která snižuje možnost kontroly autorčiny intepretace (kterou ale nezpochybňuji). Diskuze je rozhodně nadstandardní, detailní a obsáhlá, ale pouze v rámci dané skupiny Hippoboscoidea. Chybí mi obecnější porovnání s ostatními skupinami hmyzu, případně jiných organismů obsahujících symbiotické bakterie.
Následuje výčet některých nejasností či drobných pochybení. Tam, kde to bude možné, prosím o jejich vysvětlení či komentář:

Některé kostrbaté formulace: např. (strana) 2. Také je pro ně běžné zastoupení nukleotidů bohaté na adenin a thymin.
39. Bylo hypotézováno...

4. zkrácené názvy organismů bez předchozího uvedení v nezkrácené podobě... vůbec, celá práce se hemží (zkrácenými) latinskými názvy taxonů a občas je těžké se orientovat co je hostitel, co hmyzí parazit a co symbiont. Určitě by to šlo vyřešit lépe.

22. mohla by autorka blíže objasnit význam věty: Alignmenty byly použity bez úprav a potom byly ověřeny v programu Gblocks (Castresana, 2002).

23. nadpis: MLST Wolbachie, první věta: Nukleotidové sekvence pro pět genů M. ovinus, předpokládám, že jde opět o překlep?

23. možná by stálo zato objasnit, jak byly aminokyselinové alignmenty převedeny zpátky do původních nukleotidových sekvencí, protože to není úplně triviální operace a umí ji jen několik programů.

23. jakým způsobem byly sekvenovány mitochondriální genomy? A proč?

24. autorka mluví o amplifikaci genů klošů a jako jeden z nich uvádí 16S rDNA, což je označení bakteriální malé podjednotky rDNA, jedná se o překlep?

28. Obr 1 výsledný strom je v prezentované podobě nepřehledný, určitě by stálo za to redukovat sampling, neboť se zde nachází velké množství redundantní informace (platí i pro Obr. 4)

obecně platí, že všechny prezentované stromy by měly být graficky upraveny. Použitý font je (alespoň ve verzi, kterou jsem měl k dispozici) špatně čitelný a díky zkratkám se v nich velmi špatně orientuje.

32. proč je ve fylogenetickém stromu Wolbachií pouze jeden původní vstup (tzn. ten, jehož sekvence vznikly rukou autorčinou), případně, je tomu skutečně tak? Jak si vysvětluje pozici Wolbachia ex Melophaga ovina v kontextu evoluce rodu?

V mých očích je však většina těchto připomínek pouze drobnostmi, které jen nepatrně snižují kvalitu celku. Autorka prokázala schopnost práce s vědeckou literaturou, získání sekvenčních dat z biologického materiálu, jejich správné analýzy, interpretace a uvedení do kontextu s výsledky ostatních. Pro mě tak jednoznačně tak splnila podmínky pro úspěšné obhájení bakalářské práce a doufám, že můj názor budou sdílet i ostatní členové komise. Práci hodnotím stupněm **Výborně**.

V Boršově nad Vltavou, 16. 5. 2014

Aleš Horák