

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

Entomologický ústav

Biologické centrum AV ČR

Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

**Věc: Oponentský posudek na bakalářskou práci**

Bakalářská práce Martiny Flegrové se zabývá nukleotidovou variabilitou genu *enol-1* u entomopatogenních hlístic. Ve stručném úvodu autorka představuje hlístice jako zajímavý model pro evoluci parazitismu. Dále se zabývá genem *enol-1*, jeho expresí při patologických stavech a studovanými hlísticemi rodů *Heterorhabditis* a *Steinernema*. Autorka se v úvodu bohužel omezuje pouze na svůj projekt a příliš se nezabývá obecnějšími biologickými otázkami. Nejsem příznivcem zbytečně dlouhých rukopisů. Přesto si myslím, že by se úvodní kapitola mohla detailněji věnovat bezesporu zajímavým fenoménům parazitismu a endosymbiosy. Motivace práce je však z textu zjevná.

K úvodní části mám několik otázek a připomínek: (i) Autorka uvádí hypotézu o fylogenetických vztazích hlístic formulovanou na základě sekvencí ribosomální RNA malé ribosomální podjednotky Blaxterem a kol. v roce 1988. Ve skutečnosti byla práce publikována o deset let později v časopise "Nature", nikoli "Letters to nature" jak je uvedeno v seznamu literatury. Skutečně se v této práci podařilo vztahy hlístic jednoznačně objasnit? Nejsou dostupné žádné novější práce na toto téma? (ii) Hao a kol. (2012), nikoli Hao a Simoes jak je chybně uvedeno na str. 2, se patrně zabývali mírou exprese genů a ne transkriptomů. (iii) Studovaná enolasa má označení *enol-1*. Znamená to, že jsou v genomu hlístic přítomné paralogy tohoto genu? Jaká je pak jejich identita? (iv) V kap. 1.2 autorka hovoří o kladech IV a V. Uvítal bych odkaz na obrázek s vyznačením těchto skupin.

Autorka si vytyčila 4 dílčí cíle: (i) U vybraných linií rodů *Heterorhabditis* a *Steinernema* otestovat míru virulence. (ii) Vyizolovat z vybraných linií rodu *Heterorhabditis* a *Steinernema* gen pro enolázu. (iii) Vyhledat v genomových databázích relevantní homologní geny v rámci kmene *Nematoda*. (iv) Na základě zjištěné nukleotidové variability odhadnout možný model evoluce genu pro enolasu .

Kapitola Materiál a metody je velice podrobná, stylem připomíná laboratorní deník. To je i kamenem úrazu této kapitoly. Složení všech enzymatických reakcí i roztoků je uvedeno v pipetovaných objemech reagensů o neznámé koncentraci nebo vážených hmotnostech. Měly by být uvedeny finální koncentrace jednotlivých složek, v případě enzymů použitý počet jednotek. V kap. 3.7 chybí navíc ve složení Luria-Bertani agar chlorid sodný. Z metodiky testů virulence (kap. 3.9.1) není jasné, zda byla prováděna negativní kontrola a počet opakování. V textu chybí kapitola 3.10 nebo je kap. 3.11 špatně označena.

Výsledky jsou přehledně zpracované v 7 tabulkách a 8 obrázcích. Autorce se podařilo získat částečné sekvence genu *enol-1* u studovaných zástupců rodů *Heterorhabditis* a *Steinernema*. Jejich srovnání odhalilo u druhu *H. bacteriophora* 4 polymorfní místa uvnitř posledního intronu a celkem 20 polymorfismů po celé délce sekvence u druhu *S. feltiae*. Postrádám přehled polymorfních míst zjištěných u linií *S. feltiae* (kap. 4.1). Testy neutrality neukázaly signifikantní odchylku od neutrální evoluce. Testy virulence prokázaly, že se míra virulence mezi jednotlivými liniemi průkazně liší. U obr. 9, 10 a 11 které ukazují průměrnou mortalitu zavíječů a virulenci hlístic nejsou ukázány směrodatné odchylky.

V Diskusi autorka shrnuje a dává do souvislostí data z analýz získaných sekvencí včetně rozdílného počtu a polohy intronů a testů virulence hlístic. Opět postrádám zapojení získaných poznatků do širšího rámce. Seznamu použité literatury chybí jednotný formát.

Přes všechny mé připomínky mohu s klidným svědomím konstatovat, že se autorce podařilo splnit vytyčené cíle a předložená bakalářská práce splňuje nároky kladené na tento typ kvalifikační práce a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Levíně dne 18. 5. 2015



RNDr. Petr Nguyen, Ph.D.