

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Jana Hartmanna
„Ověření souvislosti genů *enol 1* a *astacinu* s evoluční adaptací na parazitismus u druhu
***Heterorhabditis bacteriophora*“**

Předložená práce se zabývá možnou rolí genů *enol 1* a *astacinu* v evoluci parazitismu u hlístice *Heterorhabditis bacteriophora*. Práce je standardně členěná. Úvod je přehledný a seznamuje čtenáře s parazitismem nematod a publikovanými kandidátními geny identifikovanými na základě hemolymfou indukované exprese u linií *H. bacteriophora*, které se liší mírou virulence. Práce si klade za cíl prověřit možnost studia funkce genů *enol 1* a *astacin* u *H. bacteriophora* a identifikaci stop selekce v jejich sekvencích.

Metody jsou popsány detailně. Některé detaily práce s hlísticemi mi však nejsou jasné. Např. pro izolaci nukleových kyselin byly dle kap. 3.2 z housenek vypitváni dospělci. Mohu poprosit o vysvětlení toho, jak jsou hlístice při pitvě odebírány? Enzymatické reakce by měly být zapsány s finálními koncentracemi. Uvedení objemů a koncentrací reagensů však opakování metod umožňuje. Výsledky jsou detailně popsány a zdokumentovány. V této části mi chybí snad jen informace o optimalizaci koncentrace kultury hlístic, o které se mluví na začátku diskuse. Také popisky u obrázků 5–7 by mohly být detailnější – není jasné co je vyneseno na ose Y, u obr. 5 je v popisku na ose X chybně uvedeno „RNAi Astacin“. Na základě výsledku RNAi exprese studovaných genů nesouvisí s virulencí hlístic. V kap. 4.4 autor poznamenává, že by příčinou mohl být použitý serotonin. Pokud odhlédnu od toho, že tato věta patří spíše do diskuse, nevylučuje tuto možnost nezměněná exprese v kontrolách? V další části práce se autor zabýval detekcí selekce v dostupných datasetech sekvencí studovaných genů. Přes použití široké škály metod se nepodařilo detekovat stopy dlouhodobě působící pozitivní selekce provázející evoluci parazitismu.

Diskuse se podrobně věnuje jednotlivým výsledkům. Je zřejmé, že exprese studovaných genů nekoreluje s virulencí, což je v souladu s výsledky analýzy dostupných sekvencí, která neodhalila známky pozitivní selekce. Výsledky jsou v rozporu s údaji publikovanými Hao et al. (2012; DOI 10.1016/j.exppara.2011.12.001), na kterých byla práce založena, a tudíž je považuji za publikovatelné (ideálně po ověření exprese genů u azorských linií). RNAi experimenty jsou postaveny na výsledcích publikovaných u několika druhů hlístic. Za relevantní považuji informaci, že infekční stadia mají mít uzavřený ústní otvor, což komplikuje příjem dsRNA při „soakingu“. Je možné ověřit příjem dsRNA hlísticemi? Je ústní

otvor uzavřený i u *Steinernema carpocapsae*? Při adaptaci protokolu RNAi měl být patrně tento druh použit jako kontrola.

Celkově se mi práce líbí a dobře se čte. Její kvalitu mírně snižuje poměrně velké množství překlepů a chyb. Autor však zjevně odvedl velké množství práce, které poukazuje na nesrovnalosti v publikovaných člancích. Práce splňuje požadavky kladené na kvalifikační práce na PŘF JU a já ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budejovicích dne 13. 7. 2020

RNDr. Petr Nguyen, Ph.D.