

Oponentský posudek na bakalářskou práci Lucie Hodíkové

„Evoluce imunitních proteinů z rodiny IDGF u čeledi slunéčkovití (Coleoptera: Coccinellidae)“

Předložená práce se zabývá rolí genů *Idgf2* a *Idgf4* v imunitní reakci při hlístovkové infekci u slunéčka *Harmonia axyridis* a fylogenetickou analýzou sekvencí těchto genů u zástupců č. Coccinellidae. Studentka zjevně odvedla velké množství práce a zvládla poměrně široké spektrum metod. Kvalita předloženého textu a zpracování výsledků však celkový dojem značně snižují.

Úvod práce v rozsahu jedné strany nebyl moc informativní. Zmiňována je biologická ochrana využívající půdní hlístovky a rozdíl v náchylnosti k infekci mezi původními a invazními slunéčky. Posledně jmenované jsou odolnější a tak aplikace druhově nespecifických hlístovek pro kontrolu invazního slunéčka nedává smysl. Zmiňován je „tento pokus“, kdy není jasné, zda jde o práci citovanou nebo předkládanou. Stejně tak mi z textu není zcela jasná motivace pro analýzu sekvencí genů *Idgf*. Na úvod navazuje teoretická část, tj. literární přehled, který se stručně zaměřuje na slunéčka a jejich biologii a strukturu, funkci a evoluci genů *Idgf*. Asi bych uvítal obecnější pojednání o „druhovcích a genových stromech“ s možnými interpretacemi rozdílů. Ani po přečtení teoretické části mi nebyl jasný třetí cíl práce, kterým byla fylogenetická analýza sekvencí *Idgf*. Tomu nepomohla ani prezentace stávajících fylogenetických studované skupiny na Obr. 2 a 3. Legendy k obrázkům (všem) jsou velmi stručné a rozhodně ne samovysvětlující. Na Obr. 2 je fylogeneze podčeledi Coccinellinae, tato podčeleď však není na obrázku vymezena a také chybí informace o provedené analýze a hodnotách na bázi některých větví. Také u Obr. 3 chybí detailnější popis kládů a jejich podbarvení, které je používáno v prezentaci vlastních výsledků. Prosím o detailní popis obou fylogenetických hypotéz a rozvedení tvrzení: „V obou případech jsou tyto skupiny vyznačeny barevně, avšak oba výzkumy použily pro skupiny jiné barvy. Fylogenetické studie se lišily pouze v rozdílnosti vztahů mezi skupinami.“ Podobně na Obr. 4 by mohla být ukázána zmiňovaná konzervovaná doména glykosidových hydroláz a vysvětlena barevná anotace jednotlivých domén.

Metodika je velmi podrobná, řekl bych až příliš. Asi není nutné uvádět, že byly použity rukavice, filtrované špičky, nebo že byla elektroforetická vana připojena kabelem ke zdroji. Vzhledem k tomu, že byly používány komerční soupravy, stačilo by uvést, že bylo postupováno dle protokolu výrobce, případně specifikovat jeho modifikace. Vzhledem k tomu, že byly nukleové kyseliny v každém kroku kvantifikovány, je nešťastné uvádění množství templátu v μL . Zajímalo by mě, jaký byl účel purifikace RNA na kolonce „NuCleo spin RNA“? Jak efektivní byla z hlediska výtěžku a čistoty stanovená na NanoDropu? V kap. 4.15 autorka uvádí, že byl použit „aBayes branch support test“, protože není náchylný na chybějící data. Platí to i v případě analýzy sekvencí, které se vyvíjí různou rychlostí?

Výsledky ukazují, že se exprese genů *Idgf2* a *Idgf4* signifikantně liší od kontrol v různých časech po infekci. Hodně prostoru je věnováno ověřování kvality a divergence DNA vzorků slunéček, které by měly vysvětlit negativní výsledky některých PCR. Není však jasné, zda byl optimalizován např. teplotní profil PCR reakce? Na tabulku č. 8 je v textu špatně odkazováno. U tabulek obecně by vysvětlivky měly být uvedeny pod tabulkou. V prezentovaných fylogenetických stromech bylo

problematické se zorientovat kvůli již zmíněné špatné prezentaci druhových vztahů v úvodu. Může být problematické postavení *H. axyridis* chybami v použité sekvenci genomu?

Diskuse je celkem povedená a konečně osvětluje některé aspekty práce. Změna exprese genů *Idgf2* a *Idgf4* při infekce je vysvětlována průběhem infekce, kdy se hlístovky po 24 h dostávají ze střeva do hemocoelu. Rozdíly mezi výsledky fylogenetických analýz sekvencí genů a druhovým stromem je vysvětlován přítomností pseudogenů a možnou pozitivní selekcí. Trochu se mi příčí interpretace nefungujících oligonukleotidů u *Chilocorus bipustulatus* a *Exochomus quadripustulatus*, jako důkaz evoluční odlišnosti. Zde by asi lépe posloužila analýza COI.

Součástí práce je také šest příloh. Obrázky a tabulky v nich by měly být očíslované a opatřené řádnými popisky.

Závěrem mohu říct, že práce splňuje všechny požadavky kladené na kvalifikační práce na PŘF JU a doporučuji ji k obhajobě. S hodnocením práce počkám na obhajobu.

V Českých Budějovicích dne 16. 1. 2023

RNDr. Petr Nguyen, Ph.D.