



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

RNDr. Magda Zrzavá, Ph.D.
Přírodovědecká fakulta
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Branišovská 1760, České Budějovice 370 05

a

Entomologický ústav, Biologické centrum AVČR
Branišovská 31, České Budějovice 370 05



BIOLOGY
CENTRE
CAS

Oponentský osudek na bakalářskou práci Hany Touškové s názvem

**Aplikace molekulárních markerů EPIC pro studium genetické variability entomopatogenních
hlístic rodu *Steinernema* (Steinernematidae)**

Bakalářská práce Hany Touškové se zabývá designem a testováním molekulárních markerů EPIC pro fylogenetické a populační studie entomopatogenních hlístic rodu *Steinernema*. Testováno bylo úctyhodných 160 jedinců z 23 druhů z evropských (převážně českých) a světových lokalit, ze kterých se podařilo získat 300 sekvencí. Bylo testováno deset nových EPIC markerů, z nichž se tři osvědčily a byly dále použity pro analýzu všech zkoumaných druhů. Paralelně byly pro srovnání testovány tři další markery, které se již pro fylogenetické a populační studie používají. Získané sekvence byly použity pro ověření fylogenetických vztahů zkoumaných druhů a populační struktury vybraného druhu *S. affinae*. Jednotlivé markery byly rovněž otestovány na přítomnost tzv. barcoding gap, díky kterému by bylo možné daný marker použít pro identifikaci druhů.

Úvod je napsaný čtivě a seznamuje čtenáře s entomopatogenními hlísticemi, jejich rolí v ochraně kulturních rostlin a s molekulárními markery, které se k jejich studiu používají. Cíle práce jsou jasně formulované, metodika až na výjimky dobře popsána. Zde bych měla jen tu připomínku, že zatímco některé metody jsou popsány až do zbytečných detailů (příprava gelu pro elfo, sterilizace mikrobiologické kličky), u jiných chybí klíčové informace. Autorka tak zřejmě zapomněla na popis samotného klonování (jaká metoda byla použita k transformaci a její popis, jaké kompetentní buňky byly použity, ...). Výsledky jsou poměrně dobře popsány, jen u grafů na obrázcích 7 a 12-18 nejsou popsány osy nebo osa. U obrázků 10 a 11 nejsou vysvětlené zkratky lokalit. První část diskuse zaměřená na metodiku je spíše opakováním výsledků než diskusí, což se zlepší v druhé části zaměřené na využití nových markerů.

Text obsahuje jen minimum chyb a kromě tradičně špatně psaného slova standardně mě nic nedráždilo. V obrázcích se již nějaké formální nedostatky nacházely. Například na obrázcích 26 a 27 jsou zkratky druhů napsány písmem s malým rozlišením, takže je nelze přečíst, u obrázku 27 navíc čísla ukazující podpory větví překrývají větve, takže jsou fylogenetické vztahy obtížně čitelné.

K práci mám následující komentáře a dotazy:

1. Prosím o vysvětlení, jak jsou GMO nepříznivé pro zdraví člověka a pro ekosystém, jak autorka tvrdí na konci prvního odstavce úvodu?
2. Autorka na str. 8 zmiňuje, že v práci Rolston et al. (2009) byly použity EPIC markery, ale z jejich studie nejsou dohledatelné sekvence primerů, proto bylo potřeba designovat nové. Zkoušeli jste kontaktovat autory práce, jestli by Vám sekvence primerů neposkytly?
3. V kapitole 4.3.1 je věta: „V Tabulce 10 se nachází počet analyzovaných druhů, které byly porovnány s odhadovaným počtem druhů podle webového severu ABGD (nastavení).“ Prosím o vysvětlení, jak tato metoda odhadu druhů funguje.
4. Proč byl pro sestavení fylogramu na obrázku 22 použit jako kořen druh *S. hermafroditum*, který podle ostatních analýz není mezi zkoumanými druhy zdaleka nejbazálnější?
5. V diskusi na str. 36 je věta „Nejprve byl konkatenován fylogram patnácti druhů, jenž byly amplifikovány u markerů COI+ND2+gEPIC4+rEPIC3.“, které nerozumím. Domnívám se, že konkatenovány mohou být sekvence, ale ne fylogram.
6. V kapitole 5.2.1 je tvrzení „To může být podpořeno i tím, že se u markeru ITS, jako u jediného z testovaných markerů, na histogramu neprolíná vnitrodruhová variabilita s mezidruhovou a vzniká tak „barcoding gap“.“ To je v rozporu s tvrzením ve výsledcích: „Z histogramů plyne, že žádný z markerů použitý samostatně neodděluje vnitrodruhovou variabilitu od mezidruhové (str. 26)“.

I přes výše zmíněné nedostatky je dle mého názoru předložená bakalářská práce zdařilá a splňuje nároky kladené na tento druh prací na PřF JU, proto jí **doporučuji k úspěšné obhajobě a předběžně hodnotím stupněm 1.**

V Českých Budějovicích
16.5.2023

RNDr. Magda Zrzavá, Ph.D.