

Bc. Šárka Podlahová: Vliv paralytického jedu lumčika, *Habrobracon hebetor*, na svalovou tkáň zavíječe, *Ephestia kuehniella* a octomilky, *Drosophila melanogaster*.

(38 stran textu, 44 citací, 12 obrázků včetně histogramů, 4 tabulky v textu, 1 příloha)

Šárka Podlahová studuje v předložené práci vliv paralytického jedu lumčika skladištního (*Habrobracon hebetor*) na ultrastrukturu svalové tkáně zavíječe moučného (*Ephestia kuehniella*) a tkáň thoraxu octomilky obecné (*Drosophila melanogaster*) metodou transmisní elektronové mikroskopie (TEM). Cíle práce doplňuje studiem role glutamátových receptorů během působení jedu lumčika u octomilky. Studentka svým způsobem navazuje na svoji bakalářskou práci (Podlahová 2019).

Šárka Podlahová nás v úvodní části krátce, ale výstižně uvádí do celé problematiky. Tento úvod doplnila autorka dvěma názornými obrázky, což je u tohoto typu práce- pro porozumění náročné problematice- výhodou.

Cíle práce (viz výše) si autorka dala dosti vysoké (především metodicky), ale dosažitelné. Zásadní výhodou je zde nasazení techniky prozařovací elektronové mikroskopie, která umožnila dostatečné zobrazení experimentů.

Kapitola "Materiál a metody" dostatečně popisuje na 10 stránkách všechny použité techniky a to jak týkající se pokusných druhů hmyzu tak aplikace vosičkového jedu a zpracování tkání technikou TEM. Obrázek 3 zde velmi srozumitelně doplňuje popis použité techniky TEM na konkrétních vzorcích. Mikroskopická práce studentky ukazuje na profesionální přístup, který je nezbytný k dosažení výsledků vyšší úrovně. Například promyšlené nahrazení běžně používané jednosložkové primární fixáže (glutaraldehyd) mnohokrát vyzkoušenou a v zásadní vědecké literatuře doporučovanou primární fixází dvousložkovou podle Karnovského (glutaraldehyd s paraformaldehydem) přispělo velkým dílem ke kvalitním mikroskopickým výsledkům (na úrovni TEM). Dobře otestovaná pak byla rovněž aplikace jedu lumčika do cílové tkáně. Metodickou kapitolu zakončuje popis technik souvisejících s křížením linií octomilky pro mRNA analýzu.

V kapitole "Výsledky" (na 9 stranách včetně obrázků) a „Diskuse“ (2 strany) Šárka Podlahová předkládá a komentuje to, čeho se jí podařilo v diplomové práci dosáhnout. Opět vysoce hodnotím jak optimální aplikaci fixáže tak výběr vhodných médií pro ředění aplikovaného jedu. To vše přispělo k výborným výsledkům s minimem artefaktů. Tyto výsledky jsou dokumentovány v souboru 5 obrazových tabulí z transmisního elektronového mikroskopu (TEM). Všechny obrázky jsou kvalitní a publikovatelné v současných vědeckých časopisech. Nakonec se Šárce podařilo prokázat, že jed lumčika skladištního (*Habrobracon hebetor*) nezpůsobuje žádné degradační procesy na svalovou tkáň, které by se daly zaznamenat na úrovni transmisní elektronové mikroskopie (TEM), a to ani u zavíječe moučného, ani u octomilky obecné. I když jsou tito hostitelé po aplikaci jedu evidentně paralyzováni. Autorka soudí, i na základě výzkumů podobné problematiky u jiných druhů ektoparazitických vosiček jinými autory, že jed tady působí jen na nervosvalové úrovni přesněji na přenos signálu na nervosvalové ploténce. Tady je tedy otevřený prostor pro další výzkumy.

Seznam literatury obsahuje 44 citací (odpovídajících mezinárodnímu standardu) pokrývajících aktuální stav oboru.

Práce je zakončena přílohou s obrázky svalů octomilky, která vznikla s pomocí přístroje Skyscan 1272 (fy Bruker). Technika Micro-CT zde byla využita ve spolupráci s kolegy Bajgarem a Krejčovou. Toto přístrojové a metodické vybavení je zcela nové a v těchto dnech se teprve začíná na Přírodovědecké fakultě využívat. Obrázky vhodně doplňují anatomické (mikroskopické) výsledky v předložené práci

Musím konstatovat, že jsem v práci nenašel žádné závažné chyby a nedostatky, které by zásadně snižovaly vysokou úroveň této magisterské diplomové práce. Samozřejmě doporučuji práci k publikování ve vědeckém časopise (nejspíš po upřesnění některých partií).

K magisterské diplomové práci Šárky Podlahové mám několik poznámek a komentářů z nichž na některé by mohla autorka odpovědět:

Terminologický problém na str.1: Je správnější termín „parazitoidický životní styl“ nebo „parazitoidní životní styl“?

Jak si je autorka jistá že její ultratenké řezy mají tloušťku zrovna 77 nm (str.13)?

Vzhledem k dostatečnému prostoru práce se domnívám, že pár obrázků TEM navíc by práci prospělo (detailní pohledy na mitochondrie například).

Šárka Podlahová v kapitolách "Výsledky" a „Diskuse“ soudí, že jed lumčíka působí zřejmě jen na nervosvalové úrovni (přesněji na přenos signálu na nervosvalové ploténce). Nenapadlo autorku zahrnout do ultrastrukturních studií i tuto tkáň? Samozřejmě by to výzkum značně zkomplikovalo (lokalizace nervosvalových plotének by byla nesnadná). Přesto by to možná stálo za samostatný výzkum.

Závěr

V celkovém hodnocení předložené magisterské práce mohu konstatovat, že Šárka Podlahová problematiku zvládla a splnila všechna kritéria PřF JU na magisterskou práci. Studentka zde prokázala schopnost samostatné vědecké práce i na obtížné tematice. **Práci Bc. Šárky Podlahové: „Vliv paralytického jedu lumčíka, *Habrobracon hebetor*, na svalovou tkáň zavíječe, *Ephestia kuehniella* a octomilky, *Drosophila melanogaster*“ doporučuji přijmout jako magisterskou diplomovou práci.**



Doc.RNDr.František Weyda,CSc.
Přírodovědecká fakulta JU
katedra medicínské biologie
České Budějovice

České Budějovice, 18. května 2022