

Oponentský posudek bakalářské práce **Kateřiny Žižkové**: Diverzita a populační struktura bakteriálních symbiontů vší rodu *Polyplax*.

Předložená práce se zabývá tématem druhové proměnlivosti mikrobiomů vší v kontextu geografické a hostitelské diverzity populací vší *P. serrata* parazitujících evropské druhy myšic. Práce tak zajímavým způsobem navazuje na témata dlouhodobě řešená na katedře parazitologie. Přičemž dříve nalezené schéma hostitelsky a geograficky podmíněné genetické struktury *P. serrata* je posunuto na další ekologickou úroveň. Práce se opírá jak o analýzu dat získaných ze sekvenace amplikonů servisním způsobem, tak o vlastní laboratorní část zabývající se designem specifických primerů pro záchyt nově objevených linií symbiontů. Náročností analýz, objemem práce a zpracovaných dat je obhajovaná práce spíše na úrovni magisterské diplomky. Práce je psána srozumitelným jazykem, analýzy byly provedeny odpovídajícím způsobem a přinášejí zajímavé výsledky. Pro mě nejzajímavější zjištění se týká především vlivu geografie na strukturu mikrobiomů sekundárních symbiontů.

Přes nesporné klady však lze v práci najít i několik nedostatků. Práce sice obsahuje minimum překlepů a formulačních nejasností nebo chybějících údajů typu „to doplním později“, nicméně překlepy, které se občas vyskytly, měly vesměs zajímavý charakter. Neodolal jsem a vybral dva překlepy, které mě při čtení pobavily. Na str. 6 autorka píše o přeměně vší na dospělce jako o „nedokonavé“. Dokonavý je slovesný vid, nikoli přeměna hmyzu, která je dokonalá nebo nedokonalá ☺ Jiný zajímavý překlep se týkal počtu mikrobiálních buněk v lidském těle. Těch není 10¹⁴ jak uvádí text na str. 2, spíše bývá v literatuře uváděno řádově 10¹⁴. A tedy poměr lidských buněk vůči symbiontům se předpokládá asi 1:10. V souvislosti s tímto je zajímavé, že nejnovější výzkum naznačuje, že počet mikrobů v lidském těle není výrazně vyšší než počet buněk hostitele a je spíše srovnatelný (Sender et al, 2016; Plos Biol).

Úvod práce je rozsahem spíše skromnější a (hlavně na začátku) až zbytečně zkratkovitý, ale i tak je úvod dostačující pro pochopení tématu práce. Závěr úvodu naznačuje možnost formulace konkrétních hypotéz – zejména vzhledem ke vztahu populační struktury hostitelů (vší) a jejich mikrobiomů. Cíle práce si ale stanovují spíše deskriptivní úkoly a následnou interpretaci zjištěných dat. To je trochu škoda, protože i diskuze výsledků ukazuje na zajímavé fenomény (např. horizontální vs. vertikální složka mikrobiomu), které mohly být formulovány už v cílech práce.

V metodice jsem postrádal informaci o sekvenační platformě a délce pair-end readů. Předpokládám, že vzhledem k délce PCR produktů 291 bp a min. překryvu readů 20 bp muselo jít o MiSeq PE 200 nebo 250? Také bych uvítal podrobnější vysvětlení některých analýz, zejména u analýz v balících programu R (str. 15), kdy bylo spíše až z výsledků jasnější, co a proč bylo regresní analýzou porovnáváno.

Prezentace výsledků byla až na několik výjimek v popiscích tabulek jasná a dobře strukturovaná. V diskuzi však přeci jen autorce trochu docházel dech. Výsledky jsou sice až na výjimky interpretovány odpovídajícím způsobem, ale na některých místech mohly být zasazeny do širšího rámce. Například u jednoho z nejdůležitějších poznatků, tedy že charakter mikrobiomů je formován především geografickou rozmanitostí horizontální složky (S symbionty), není jasné zda jde o anekdotický poznatek, nebo jestli zapadá do nějaké obecné představy.

Mnou nalezené (a možná subjektivní nedostatky) nijak nesnižují vysokou kvalitu předložené práce, která určitě odpovídá standardům Přírodovědecké fakulty JU. Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnotit stupněm 1 až 2 v závislosti na průběhu samotné obhajoby.

Závěrem mám několik dotazů k použitým metodám a interpretacím výsledků:

1) Posouzení vlivu geografického pozadí na složení mikrobiomů (str.16). Nebylo by účelné analýzu založenou na poněkud „nebiologickém“ rozdělení geografie podle států doplnit i analýzou typu Mantelova testu – tedy porovnáním s geografickými vzdálenostmi? Mělo by to být poměrně snadno proveditelné, vzhledem k použitelnému vstupu v podobě Bray-Curtisových matic pro mikrobiomy.

2) Fylogeneze pomocí Maximum Likelihood byla použita jen jako „kostra“. Přesto, mají jednotlivé větve, zejména ty, které jsou podstatné z hlediska zaměření práce, nějakou statistickou podporu? V diskuzi autorka uvádí, že fylogeneze symbiontů jsou rozporuplné vzhledem k rychle se měnícímu GC obsahu v evoluci mikrobů a problémům s dlouhými větvemi. Nakolik se tedy tato fylogenetická kostra prolíná s nějakým status quo, pokud nějaký existuje?

3) Na str. 22 autorka interpretuje zjištěné symbionty na základě GC obsahu jako recentně získané sekundární (OTU 13, GC 53.7%) a primární symbionty (OTU 18, GC 49.4%). Zajímalo by mě, na kolik je rozdíl 4% GC obsahu v sekvenci o přibližně 250 bp spolehlivým měřítkem.

4) Analýza genealogie jako determinant mikrobiomového profilu (str. 33) sice poskytla signifikantní výsledek, ale ten má nejspíš minimální vliv (hodnoty R^2 blíží se nule). Má skutečně genealogie, tedy populační historie hostitele, reálný vliv na mikrobiom? Obzvláště v případě geograficky strukturovaných linií Východ/Západ. Diskuze k tomuto výsledku je velmi strohá a nenabízí žádnou interpretaci.

Jan Štefka

V Č. Budějovicích 19.5.2017