

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Elišky Juhaňákové „Evoluce symbiotických bakterií krevsajčího dvoukřídlého hmyzu“

Eliška Juhaňáková se ve své diplomové práci zaměřila na bakteriální symbionty dvou klošů *Ornithomya biloba* a *Craterina pallida*. Pomocí bioinformatických přístupů analyzovala metagenomická data. Assemblovala genomy dvou bakteriálních endosymbiontů, pokusila se detekovat geny, které byly vneseny do genomu horizontálním přenosem a také rekonstruovala metabolické dráhy pro esenciální B vitamíny.

Práci považuji za velmi zdařilou jak po obsahové tak po formální stránce. Úvod a literární přehled je sepsán přehledně a výstižně, čtenář je dobře uveden do dané problematiky. Všechny čtyři vytyčené cíle se podařilo splnit. Autorka si podle mne dobře poradila s poměrně složitou metodikou komplexních bioinformatických postupů. Zejména metoda assemblování genomů byla poměrně složitá zejména díky kontaminaci druhé bakterie rodu *Wolbachia* u jednoho z datasetů. Výsledky jsou srozumitelně prezentovány a rovněž i diskuzi je na dobré úrovni. K práci mám následující připomínky a dotazy:

- 1) V úvodu jsem úplně nepochopil jeden z mechanismů reprodukční manipulace bakterií, a to cytoplazmatickou inkompatibilitu, která, jak se v práci píše, “postupně vytlačuje z populace jedince, kteří nejsou infikováni bakterií rodu *Wolbachia*. Toho je docíleno úmrtím embryí, která vznikla z neinfikované samice.” Můžete mi to prosím blíže vysvětlit?
- 2) Dále mě v úvodu zaujala pasáž, kde popisujete, že vektorová kapacita hmyzu neboli schopnost přenášet patogeny může být inhibována některými bakteriálními komunitami, které jsou součástí mikrobiomu hmyzu. Příkladem může být bakterie rodu *Wolbachia*, která inhibuje přenos parazita *Plasmodium* komárem *Aedes aegypti*. Je v literatuře nějak blíže popsáno, jakým mechanismem se to děje a k čemu by to mohlo být prospěšné pro hostitele bakterií (jestli vůbec) nebo pro endosymbionta?
- 3) Obsahoval dataset *Arsenophonus_1*, vytvořený pomocí assembleru SPAdes, který nepředpokládá přítomnost více genomů v datasetu, také kontigy patřící bakterii *Wolbachia* sp., která se v datasetu objevila jako kontaminant u jiného způsobu assemblování?
- 4) Správně assemblovat genomy dvou organismů, které jsou přítomny v jednom vzorku je velmi těžké. Jakým způsobem jste ošetřili možnost vzniku chimérických kontigů? Nebylo by vhodnější odfiltrovat ready jedné z bakterií (wolbachie) ještě před vytvořením kontigů?
- 5) Zaujalo mne (jako parazitologa), že jste v datasetu kontigů z kloše kromě bakterií, kloše, jeho ptačího hostitele našli také krevní parazity ptáků. Dalo se určit, jací to byli paraziti?
- 6) V tabulce 3 je uveden celkový počet genů u obou bakterií rodu *Arsenophonus*. Jestli to dobře chápu, jsou to geny, které byly všechny anotované? Kolik bylo ještě přítomno hypotetických genů, které nebyly anotovány?
- 7) V kapitole 4.3 má být pravděpodobně odkaz na tabulku 5, ne na tabulku 4.

- 8) Fylogenetické analýzy měly podle mého názoru obsahovat také analýzu podpory větvení (bootstrap). Grafické znázornění stromů mohlo být mnohem lepší.
- 9) Nemůže být velmi redukovaný genom bakterie *Arsenophonus* z *Ornithomya biloba* výsledkem problémů s assemblováním genomu, které jsou popsány v kapitole 5.1? Nebo považujete 0,68 Mbp jako opravdu skutečnou velikost genomu?

Přes vznesené připomínky doporučuji diplomovou práci Elišky Juhaňákové vřele k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 8. 7. 2020



RNDr. Ivan Fiala, Ph.D.