Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Elišky Juhaňákové *"Evoluce symbiotických bakterií krevsajícího dvoukřídlého hmyzu"*

Symbióza v širším slova smyslu je patrně nejrozšířenější biotický vztah. Ačkoliv je předmětem studia už poměrně dlouho, teprve v poslední době se začíná plně doceňovat její význam. Z tohoto pohledu je téma předkládané diplomové práce aktuální a dobře zvolené. Jedná se sice o výlučně bioinformatickou práci, nicméně i tak metodicky poměrně pestrou a odpovídající stupni studia autorky. A to i v případě, že by se na tvorbě/optimalizaci metodiky nijak nepodílela (což z textu není nijak patrné).

Cílem bylo popsat sekvence genomů bakteriálních symbiontů dvou druhů klošů a z nich vyčíst informace o jejich evoluční historii. Z této perspektivy vidím název jako přehnaně velkorysý, autorka asi mohla být víc konkrétní. Práce má standardní členění. V Úvodu nás formou krátké literární rešerše seznamuje s problematikou endosymbiontů krevsajícího hmyzu. V kontextu ostatních magisterských a bakalářských prací, které jsem měl tu čest oponovat, odpovídá úvodních deset stran spíše té druhé kategorii. Tady asi šlo asi trochu přidat, zejména v obecnějších kapitolách týkajících se dopady evoluce symbiontů na jejich genomy. Na druhou stranu, kapitola detailně popisující vitamíny skupiny B a různé kofaktory mi nepřijde příliš relevantní, a klidně bych ji oželel.

Cíle práce jsou formulovány na obecné i konkrétní rovině a až na neobratnost některých slovních spojení nemám výhrady. Metodika je poměrně obsáhlá, což je vzhledem k náročnosti tématu určitě dobře. Vlastně bych se nezlobil, aby byla ještě obsáhlejší. Zejména kapitoly popisující způsob skládání Illumina čtení jsou srozumitelné až po několikátém přečtení a určitě by šly formulovat lépe. Chápu, že se jedná o komplikovanou problematiku, takže jde spíše o jen o připomenutí, ne nijak závažnou výtku. Vložená schémata (Obr. 1 a 3) mají sice mizernou grafickou kvalitu (aspoň v pdf verzi), ale jinak text vhodně doplňují. Obávám se, že Obr. 2 bude v tištěné verzi nejspíš nečitelný, a tudíž nesrozumitelný. Asi by šel udělat lépe. Taky mě dost tahalo za oči určité znásilňování češtiny, kterým Metodika docela trpí. Chápu, že některé anglické výrazy doposud nemají uspokojivý český ekvivalent, ale autorka není konzistentní. Někde používá počeštěnou formu, jako např. *kontig*, jindy ponechává anglickou formu (*read, assembly*), někde obojí kombinuje (*methylace*).

Když už jsme u jazykové stránky, trochu práce by ještě snesla. Pravopisné chyby a překlepy už mě v diplomkách přestalo bavit opravovat. Tuhle touhu ve mně plně saturují domácí úkoly mých potomků a v případě předložené práce jsem jich nenašel tolik, aby to stálo za zmínku. Víc už mi ale vadilo opakování slov (např str. 3, kapitola 1.2 Třikrát za sebou *Mezi* na zač. věty; str. 6, kapitola 1.5.1 *Bakteriální genomy lze porovnávat na základě velikosti genomu*), autorka by měla víc používat zájmena. Časté jsou také zbytečně složité větné konstrukce, které snižují čtivost textu a znesnadňují jeho chápání.

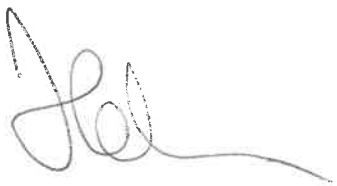
Co se týká výsledků a jejich prezentace, jsem v zásadě spokojený. Jisté výhrady (stejné jako v případě obr. 2) mám pouze ke grafickému zpracování obr. 5. Taky tvorba datasetů pro posuzování možnosti horizontálního přenosu je hodně zjednodušená a v zásadě se moc neliší od určení podle výsledků Blastu, vůči kterému se autorka správně vyhrazuje. Vložené tabulky a schéma (obr. 14) prezentují hlavní výsledky mnohem lépe než text, který je místy šroubovaný a špatně srozumitelný (viz odstavec výše).

Diskuze mě, přiznám se, příjemně překvapila. Autorka v ní dokáže správně interpretovat výsledky a zasadit je do kontextu dostupné literatury. Té cituje úctyhodné množství, i když některé

kapitoly Úvodu a Diskuze by zasluhovaly citovat více. Když už do práce napíšu: „Z výsledku nedávných studií vyplývá..." (kapitola 1.7), bylo by asi dobré tyto studie uvést. Kromě výše uvedených faktických připomínek mám i několik následujících otázek. Odpovědi bych rád slyšel u obhajoby.

1. To, že výsledné kontigy patří bakteriím rodu *Arsenophorus*, bylo ověřeno jejich porovnáním s genomem bakterie *Providencia rettgeri* a ne s již známými sekvencemi *Arsenophorus*, proč?
2. Z toho, co jsme pochopil z textu, dává autorka rovnítko mezi sumu velikostí kontigů získaných při skládání Illumina čtení a velikostí velikost genomů obou endosymbiotických bakterií rodu *Arsenophorus*. Z těch pak odvozuje jejich evoluční historii a z obsažených genů zase jejich metabolický potenciál. Jak moc si je jistá, že jsou genomy v zásadě kompletní? Pokud ano, jak k tomu došla a jaké jsou obecné postupy testování kompletnosti genomové asembláže u bakterií?
3. V kapitole o HGT autorka zmiňuje rozdíly mezi použitými fylogenetickými modely s tím, že ten, který nakonec použila, poskytuje „poměrně přesvědčivou" topologii. Když pominu osobní nesouhlas s tvrzením, že LG matice je jednoduchá (není spíše obecná?) a souhlas s tvrzením, že MtArt model je odvozený (což ovšem neznamená složitější), pořád mi vadí určitá implicitní neprůstřelnost argumentace „topologie u genu s podezřením na HGT je správná, protože odpovídá předpokládaným fylogenetickým vztahům". Možná jde jen o nešťastnou formulaci, nebo o můj špatný výklad, ale testovala autorka nějak pozorované topologie? Navíc, v případě silně odvozených sekvencí endosymbiontů by **určitě** stálo za to použít skutečně složitější evoluční modely. Které to jsou a jaké programy je nabízí?
4. Jak už jsem zmínil výše, způsob tvorby datasetů pro kapitolu o HGT mi nepřijde vůbec šťastný. Výsledné topologie nejsou moc vypovídající. Napadá autorku alternativní metodika analýzy HGT?
5. V poslední kapitole Diskuze autorka spekuluje o kompletnosti a funkčnosti jednotlivých drah pro syntézu kofaktorů a vitamínů skupiny B. Považuje danou dráhu za funkční pouze tehdy, pokud ji v genomu symbionta našla kompletní? Když ne, kde je hranice a proč by se v redukovaném a silně „optimalizovaném" genomu endosymbionta nacházely evidentně zbytečné geny? Nebo nejsou zbytečné?

Jak je vidět z předchozího textu, k práci Bc. Elišky Juhaňákové mám několik připomínek. Ty se většinou týkají její formální stránky. Jinak ale bezesporu splňuje všechny požadavky, a měla by být bez problémů „obhájitelná". Navíc jde o složité téma, a zejména pokud s ním autorka začala až během magisterského studia, budu určitě při finálním hodnocení po shlédnutí obhajoby shovívavý.

V Českých Budějovicích 09. 07. 2020

Aleš Horák