



# BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.

## Hydrobiologický ústav

adresa: Na Sádkách 702/7, 370 05 České Budějovice  
telefon: +420 387 775 881  
fax: +420 385 310 248

IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344  
číslo účtu: 6063942/0800, Česká spořitelna, a.s.  
www.hbu.cas.cz | e-mail: hbu@hbu.cas.cz

### Oponentský posudek na diplomovou práci

**Název práce:** Vliv ekologických a environmentálních faktorů na mikrobiomy vybraných krevsajících členovců

**Autor:** Bc. Simona Křepelková

**Oponent:** RNDr. Jan Mareš, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce Simony Křepelkové si kladla za cíl prozkoumat složení mikrobiomu několika druhů krevsajících triatom, jednoho zástupce příbuzné fytofágní plošnice a jednoho druhu klíštěte, získaných ze stejných lokalit. Tato data měla umožnit posouzení, zda je mikrobiom ovlivněn spíše druhovou specificitou hostitele, jeho potravní specializací na základě konvergence, nebo spíše vlivem prostředí (podmínkami nebo poolem dostupných bakterií).

Práce je napsána přehledně a srozumitelně, včetně prezentace obrázků a tabulek. Text obsahuje jen malé množství pravopisných a jiných formálních chyb.

Oceňuji informativní a přehledný úvod práce, po jehož přečtení jsem neměl pocit, že bych měl problém s pochopením problematiky, přestože o ekologii hematofágních členovců mám jen velmi matné povědomí.

Metodika získávání dat se jeví jako standardní a důvěryhodná. Studentce se bohužel nepodařilo amplifikovat DNA ze vzorků prostředí (dřevo, prach apod.) a některé z původních hypotéz tak nebylo možné ověřit.

Celkový objem práce vykonaný uchazečkou je dostatečný pro diplomovou práci. Určitou limitací je menší počet studovaných druhů a biotopů, který podle mého názoru neumožňuje spolehlivě testovat navržené hypotézy. Výsledky samy o sobě jsou však kvalitní a mohou posloužit jako velmi dobré vodítko pro navazující studii, která může v budoucnu vést k zajímavé publikaci. Diskuze získaných dat je poměrně velmi stručná ale s drobnými výhradami přijatelná (viz Otázky).

**Práce splňuje požadavky kladené na diplomové práce předkládané na PŘF JU, a proto ji doporučuji k obhajobě. V případě velmi přesvědčivé obhajoby navrhuji klasifikaci stupněm VÝBORNĚ.**

Následují konkrétní otázky a komentáře:

- 1) Ve výčtu hematofágních zástupců Diptera v kapitole 1.1.2 mě zarazilo, že nejsou zmiňováni např. komáři a muchničky.
- 2) V kapitole 1.4.1.1 je uvedena chybná formulace „Pyrrhocoridae je štávysající rod...”
- 3) V kapitole 3.1 je uvedeno, že vzorky byly získány z hnízd krysy druhu *Neotoma albigula*, nejedná se však o krysy ale křečky bělohrdlé.
- 4) Na straně 18 je uvedeno, že PCR reakce probíhaly v „Mastercycleru“ bez další specifikace.



- 5) V Tab. 1 je uvedeno, že primery PL1 a PL2 amplifikují úsek o délce 1190 bp. Pokud to správně chápu, má se jednat o primery pro přípravu amplikonových knihoven, kde je délka amplifikovaného úseku pouze něco přes 500 bp.
- 6) V kapitole 4.1. se uvádí, že „DNA enviromentálních vzorků (2 vzorky roztočů, 3 vzorky dřeva, 3 vzorky prachu) se však ani po následných amplifikacích a čištěních nepodařilo získat“. Co je tím myšleno – DNA byla vyizolována úspěšně ale PCR nefungovala? Nebo se extrakce DNA nezdařila? Co by mohlo být příčinou a existují ještě nějaké jiné možnosti, jak postupovat?
- 7) Ve výsledcích na str. 30 se uvádí, že „U zástupců *Triatoma gertaeckeri* je hlavním rodem *Bacillus*, *Streptomyces*. Naproti tomu u *T. lecticularia* dominují bakteriální rody *Dietzia*, *Mycobacterium* a *Acinetobacter*“. Při pohledu na obrázek 10 se ale spíše zdá, že identita dominantních taxonů u *T. gertaeckeri* byla dosti náhodná, u jednoho vzorku dominuje *Tsukamurella*, u dalšího je nejhojnější *Acinetobacter* – tyto bakterie nejsou zmíněny. Možná by bylo namísto přiznat, že vzorků je tak málo, že u *Triatom* nelze spolehlivě vysledovat specifické dominanty. Podobně u *T. lecticularia* je snad jedinou opakující se dominantou *Dietzia*. Pro diskuzi výsledků by bylo možná zajímavější se podívat na to, jestli se některé méně zastoupené druhy specificky vyskytují v hematofágních družích.
- 8) Obrázek 9a na mě působil poněkud zavádějícím dojmem. Není rozdíl dán jenom tím, že *Largus* obsahuje specificky bakterie *Bartonella*, *Burkholderia*, *Lactococcus* atd.? Je možné to interpretovat jako rozdíl mezi fytofágní a hematofágní specializací, když je *Largus* jediným studovaným fytofágním zástupcem?
- 9) V kapitole 5.1 v Diskuzi se uvádí: „Z výsledků statistických analýz plyne, že se mikrobiomy druhů *T. protracta* a *T. rubida* od sebe signifikantně liší, přestože analyzovaní jedinci pocházejí ze stejných stanovišť a získávají potravu z totožných hostitelů, hlodavců *Neotoma albigula* (Obr. 2-7). Z toho vyplývá, že shodné enviromentální faktory nemusí mít na složení mikrobiomu zásadní vliv.“ Domnívám se, že druhá hypotéza nebyla statistickými analýzami vůbec testována (a vzhledem k malému počtu druhů a biotopů ani v plné šíři testována být nemohla). To, že se mikrobiom dvou různých druhů ve stejném prostředí bude nějak lišit je prakticky jisté. Mají tyto dva druhy také nějaký průnik ve složení mikrobiomu v rámci lokality? Pokud ano, je tento průnik odlišný mezi dvěma různými prostředími? To by pak mohlo ukazovat na možný druhově nesespecifický vliv habitatu na složení mikrobiomu.
- 10) Na str. 32 se uvádí, že nebylo možné ověřit příslušnost OTU r. *Mycobacterium* k patogenním druhům. Nepomohla by fylogenetická analýza této sekvence?

