



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.

Parazitologický ústav

adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice
telefon: +420 387 775 403
fax: +420 385 310 388

IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344
číslo účtu: 5527231/0710, ČNB České Budějovice
www.paru.cas.cz | e-mail: paru@paru.cas.cz

Oponentský posudek na diplomovou práci Kateřiny Žižkové „Vliv potravní preference všenek (Phthiraptera: Amblycera) na formování jejich mikrobiomů“

Ve své diplomové práci se Kateřina Žižková zabývala studiem mikrobiomů všenek. Zpracovala poměrně obsáhlý dataset obsahující 16 druhů všenek ze 17 různých samlpovacích míst. Na základě amplikonových dat se pokusila pátrat po vlivu potravní preference všenek na složení jejich mikrobiomu.

Úvod práce je napsán velmi přehledně a čtenář je dostatečně seznámen s danou problematikou. Metodika zahrnuje celou řadu přístupů od zpracování metabarkódovacích dat bioinformatickými metodami po vyhodnocení statistiky v R-studiu. Metodika je poměrně stručná a připomíná spíš stručnou metodiku vědeckého článku. Postrádal jsem například podrobnější informace o tvorbě amplikonových knihoven, respektive podmínky PCR (odkázat na publikaci Brown et al. 2020 je podle mne v diplomové práci málo). Výsledky jsou stručné a výstižné zahrnující celou řadu přehledných tabulek a obrázků. Po formální stránce jsem postrádal kapitolu Závěr, nejsem si ovšem jistý, jestli je toto nějak přesně dané v pravidlech pro psaní diplomových prací. Práce se mi jako celek velmi líbila a hodnotím ji velmi kladně s přihlédnutím na fakt, že téma bylo poměrně náročné.

K diplomové práci mám následující dotazy/připomínky, na které prosím reagovat:

Předpokládám, že při tvorbě amplikonových knihoven byly oba primery (forward i reverse) barkodovány. Pravděpodobně je to popsáno v Brown et al. 2020, na které se odkazuje, a přiznám se, že se mi literaturu nechtělo dohledávat. Ptám se proto, že by mi přišlo logičtější při zpracování amplikonových dat nejdříve párovat forwardové a reverzní ready a až poté je demultiplexovat pomocí obou barkódů. Nebo se pletu? Prosím o bližší vysvětlení této části metabarkódovací analýzy.

Je mi jasné, že počet vzorků není ovlivnitelný diplomantkou, takže velmi velký nepoměr vzorků mikrobiomů z *Menacanthus eurysternus* a *M. stramineus* určitě není chybou, nicméně mi trochu chyběla určitá opatrnost ve výkladu porovnání těchto vzorků právě vzhledem k tomuto nepoměru (např. na str. 9). A to hlavně i z důvodu velké proměnlivosti zastoupení bakterií v mikrobiomu vzorků v rámci nejpočetněji samlpované *M. eurysternus*, jak plyne z heat mapy na obr. 10. Čím lze vysvětlit tuto proměnlivost mezi jednotlivými vzorky v rámci jednoho druhu? Předpokládal bych, že některé bakterie (ty symbiotické) jsou nezbytné pro trávení potravy. Ale je zde několik vzorků, které podle heat mapy nemají např. vůbec žádnou *wolbachii* (nebo jen nepatrný počet readů). Nemůže jít o nějakou technickou chybu/artefakt?

Byl nastaven nějaký treshold počtu readů? Mám tím na mysli například, zda-li počet readů pod nějakou prahovou hodnotu počtu readů nebyl brán jako arteficiální přítomnost bakterie z důvodu možného přelití readů během illumina amplikonového sekvenování poolovaných vzorků?

V diskuzi je zmíněna možná přítomnost bakterií jen na základě pasáže traktem díky přítomnosti (kontaminaci) některých bakterií na potravě. Lze nějak odfiltrovat vzorky, které jsou pravděpodobně kontaminantem pouze na základě amplikonových dat?



V druhém odstavci na straně 37 je uvedeno, že druhy všenek živící se krví se k ní musí prokousat kůží, případně peřím a že se mikrobiom musí s keratinem obsaženým v těchto strukturách vypořádat. To mně přijde velmi zajímavé a je škoda, že ve studii jsou pouze dva druhy živící se krví. Nicméně nešlo by z velkého počtu vzorků *M. eurysternus*, který má široké spektrum hostitelů, vypátrat nějakou souvislost mezi složením mikrobiomu a charakterem přístupu ke krvi u různých hostitelů?

Jeden ze dvou cílů uvedených v diplomové práci je posoudit možnou konvergenci mezi mikrobiomy všenek živících se krví a mikrobiomy vybraných druhů vší. Nejsem si jistý, jestli jsem v práci našel pasáž, která by se tímto problémem zabývala. Ale je možné, že mi to uniklo, prosím o komentář k tomuto cíli.

Mezi drobné nedostatky řadím například:

- i) Nepřesnosti v Tab I, kdy počty vzorků u šesti lokalit, respektive hostitelů, nesouhlasí se součtem počtů vzorků v této tabulce. Stejně tak jeden nesoulad je i s obrázkem 1 – zde je počet vzorků v jižní Africe uveden 13 – v tabulce je 12.
- ii) V seznamu literatury by měli být v magisterské práci podle mého názoru všichni autoři rozepsáni a nemělo by se zkracovat do formy „první autor et al.“
- iii) několikrát se v práci objevilo v souvislosti s geografickým rozšířením všenek to, že pocházejí z různých států – lépe je použít označení určité geografické oblasti, stát je politicky definované území a nemusí vždy znamenat dvě odlišné oblasti.
- iv) Bohužel fylogenetický strom v příloze P2 je ve velmi špatném rozlišení a není šance přečíst ani jeden název taxonu (a to ani na obrazovce počítače v PDF formátu diplomové práce).

Diplomovou práci Kateřiny Žižkové považuji za výbornou a vřele ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 21. 5. 2021



RNDr. Ivan Fiala, Ph.D