

Bc. Natália Farmadin: Mikrobiómy krvsajících členovcov z púštnych oblastí Spojených štátov amerických

Oponentský posudek diplomové práce

Diplomová práce Natálie Farmadin se zabývá zajímavým a perspektivním tématem. Lze ovšem sotva očekávat od oponenta, který se zabývá obdobným výzkumem, že jej prohlásí za nezajímavý a neperspektivní, doplním tedy ještě, že její výsledky přinášejí do této problematiky nové a relevantní informace.

Prvním dojmem po přečtení práce plyne z její celkové struktury. Ta mi připadá trochu neuspořádaná ("rozklížená"). Nepříliš srozumitelný je vztah úvodu a vlastní práce. Úvod seznamuje s problematikou symbiózy mezi členovci a bakteriemi, po které následuje představení studovaných modelů. Symbióza je zde však představena do značné míry na příkladu komárů, kteří nejsou vlastním modelovým skupinám příliš blízcí ani fylogeneticky, ani ekologicky. Představení modelových organismů, klíšťat a triatom, je pak zatíženo dlouhými pasážemi, které pro vlastní práci nepřinášejí žádné relevantní informace (např. skoro celá str. 5 i 9, zabývající se klinickými aspekty přenášených onemocnění). Toto hodnocení úvodu může znít až příliš formalisticky, jeho smyslem je však zdůraznit, že takový úvod je pro čtenáře matoucí a nedává mu jasnou představu "kam to celé směřuje".

Z formulace cílů jsem trochu rozpačitý: Analýza mikrobiomů jako samostatný cíl je zde stanovena jen pro klíšťata. Ploštice jsou uvedeny pouze jako srovnávací skupina. Z dalšího textu se však zdá, že obě skupiny jsou analyzovány "rovnoprávně" a následně mezi sebou porovnány. Jak to tedy přesně je myšleno?

Sám nejsem příliš pozorný a důsledný čtenář (ani při korekcích vlastních textů), přesto jsem bez zvláštního úsilí zaznamenal drobné, ale poměrně časté chyby nebo nepřesnosti (pokud nekončí otazníkem, nevyžadují na ně odpověď, leda by Natálie chtěla uvést na pravou míru mé případné nepochopení některých pasáží):

- "Zaraďujú sa medzi hematofágy a ektoparazity, krv sajú predovšetkým na cicavcoch, ale aj vtákoch či plazoch". (str. 3) Též obojživelníci.
- "Väčšina jedincov tejto čeľade". (str 6) Patrně míněno "většina druhů", jinak to nedává příliš smysl.
- "Likvidita". (str 6) Nejsem si jist, ale řekl bych, že i ve slovenštině je to ekonomický termín.
- "Ďalšou modifikáciou bola zmena zloženia slín, ktoré obsahujú enzýmy (antikoagulanty, apyrázy, agregačné faktory krvných doštičiek, a iné) potrebné na príjem a trávenie krvi". (str 7) Pravděpodobně jsou míněny "inhibitory agregačních faktorů", nebo nějak podobně.
- "Ďalej ľudia používajú prírodné prostriedky ako niektoré druhy rastlín (Salvia, Annona a iné), ktoré môžu zvyšovať smrtnosť triatom, ale ich účinnosť nie je vysoká (do 50%)." (str 8) Nejsem si jist, z jakého kontextu tvrzení vyplývá, ale "smrtnost 50%" se mi zdá vysoká dost.
- "Patogénom v mikrobióme *O. turicata* je *Borrelia*." (str 27) Čím patogenem?
- Harpactorini není podčeď. (str 28)
- "U *Rickettsie* ako bakteriálneho druhu...." (str 28) Jde o rod.
- "...sa vyskytovala v mikrofilmoch všetkých druhov." (str 28)
- Latinské názvy (psané kurzívou s počátečním velkým písmenem) nelze skloňovat (*Coxiella*, *Rickettsiou*, *Rickettsie*, "od *Neotom*").
- Nejasné používání termínů *Coxiella*-like a *Coxiella*.

V legendě obrázků se k taxonomickému zařazení OTUs objevuje "ND = nedefinovaná taxa na úrovni rodu." Nebylo možné udělat alespoň determinaci vyšší taxonomické kategorie? Mohlo by to přinést

nějakou užitečnou a smysluplnou informací? A proč vlastně se identifikace rodu nepodařila, co to o těchto bakteriích říká?

V nejdůležitější části práce, tedy diskusi, jsou výsledky interpretovány a zasazeny do kontextu známých faktů a studií. Tato část přináší některé zajímavé a srozumitelné nové poznatky, ale taky řadu záhadných údajů a formulací, jako například:

str. 27

“ Spadají do desiatich známých rodov: *Coxiella*-like endosymbionts, *Rickettsiella*, *Francisella*, *Midichloria*, *Rickettsia*, *Wolbachia*, *Spiroplasma*, *Cardinium*, *Lariskella* a *Arsenophonus*.”

Proč deseti? Je to nějak arbitrárně zvolená hranice pro interpretaci amplikonových abundancí? K čemu přesně se tento údaj vztahuje (rody, které se objevují v mikrobiomu pohromadě, nebo které se vyskytují jednotlivě u různých klišťat jako symbionti, nebo ještě něco jiného)?

“Coxiellu môžeme považovať za endosymbionta, bola popísaná u *O. rostratus*, u ktorého sa nachádzala aj vo vajčkách, čo ukazuje na jej transovariálny prenos z matky na potomstvo (Almeida et al. 2012), tiež bola popísaná u *O. turicata* v Mexiku (Barraza-Guerrero et al. 2020) a u mäkkého kliešťa *Ornithodoros maritimus* (Gomard et al. 2021). Diverzita *Coxiella*-like endosymbiontov ukazuje na možné ko-evolučné prepojenie a tiež vertikálny prenos. *Coxiella*-like endosymbionti sú pravdepodobne ko-evolučne prepojený s druhmi kliešťov: *I. ricinus*, *I. hexagonus* a *I. uriae* (Almeida et al. 2012). Podtržené části vůbec nerozumím. Co se tím přesně říká?

A co říká tato věta? “Dalším potvrzením tejto teórie je, že symbiont *Rickettsia* sa objavuje so symbiontom *Midichloria*, tento „pattern“ v mojich dátach nebol zaznamenaný.”

Str. 29

“N našich dát nie sme schopní určiť, či sa jedná o fakultatívneho alebo obligatórneho symbionta. Pre lepší vhlad by bolo nutné použiť aspoň MLST analýzu, na jej základe zaradiť *Wolbachiu* do niektorej z jej superskupín, prípadne použiť celogenomové sekvenovanie, ktoré by nám poskytlo informácie o kapacite genomu tejto konkrétnej línie.”

Celogenomové sekvenování mi dává smysl, ale jak by MLST analýza měla odhalit fakultativní/obligátní podstatu symbiózy?

Předložená diplomová práce má sice řadu nedostatků, jak v celkovém uspořádání, tak z hlediska formulací a interpretací, ale nepochybně naplňuje všechny požadavky na tuto formu práce. Vzhledem k tomu, že je vypracována v rámci grantového projektu školitelky, lze navíc předpokládat, že její výsledky budou součástí jeho výstupů, včetně odborných publikací. Hodnocení práce prozatím nechávám otevřené až do shlednutí obhajoby.