BIOLOGY CENTRE CAS
Institute of Parasitology
address: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic
IBAN – CZ24 0800 0000 0000 0606 3942 | SWIFT CODE – GIBACZPX | VAT No.: CZ60077344
phone: +420 387 775 403 | fax: +420 385 310 388 | www.paru.cas.cz | e-mail: paru@paru.cas.cz

České Budějovice, 26. 8. 2020

Oponentský posudek

Diplomová práce: Fylogenetické postavení rodu Polymastix a jeho prokaryotických symbiontů

Bylo mi potěšením vypracovat oponentský posudek na diplomovou práci Anety Kubánkové. Práce je dobře a jasně napsaná, studovanou tématiku rozebírá do odpovídající šíře, má celkovou délku 64 stran a odkazuje na 101 referencí. V textu jsem nenašel žádné formální nedostatky ani významné překlepy nebo chyby.

Práce se zabývá genomikou a molekulárně fylogenetickou analýzou prvoka rodu *Polymastix* a jeho prokaryotických symbiontů. Studium mikrobiální symbiózy je dnes ve světe populárním tématem. Práce je o to zajímavější, že se zaobírá mikroorganizmy ze skupiny Oxymonadida, kteří běžně obývají zažívací trakt dřevokazného hmyzu a předpokládá se, že se někteří jeho zástupci podílejí na trávení lignocelulózy. Zástupci této skupiny byli a stále jsou relativně málo studováni. Jediný veřejně publikovaný genom rodu *Monocercomonoides* ukázal, že tento prvok kompletně ztratil mitochondrii, což byl do té doby doposud nevídaný úkaz a skupina oxymonád se tak stala ještě zajímavější. Předkládané výsledky a vygenerovaná data tudíž mají velkou vědeckou hodnotu.

Vzhledem k tomu, že zástupci oxymonád jsou obecně nekultivovatelní, musela se autorka uchýlit k sekvenování a analýzám dat generovaných z jednotlivě nasbíraných buněk. Úroveň a použitelnost výsledných dat ukazuje, že laboratorní část práce byla provedena čistě a precizně. Na základě vlastních zkušeností s generováním a analýzou sekvenčních dat z jednotlivých buněk vím, o jak „riskantní“ a na kontaminaci sensitivní práci se jedná. Získaná data byla pak elegantně zpracována a analyzována. Autorka se nejdříve pokusila sestavit co nejkompletnější genom *Polymastixe*, což se jí, dle prezentovaných dat, do jisté míry podařilo. Poté se pokusila osvětlit fylogenetickou pozici *Polymastixe* za pomocí jednogenové analýzy s rozsáhlým taxonomickým samplingem a multigenové analýzy s relativně malým počtem taxonů. V poslední části práce se autorka zaobírá vytipováním prokaryotických symbiontů, jejich fylogenetickou pozicí a lokalizací pomocí metody FISH přímo na buňkách Polymastixe. Získané výsledky jsou pak patřičně a jasně diskutovány v rámci současných, publikovaných poznatků.

Zpracování a výsledky této diplomové práce jsou nesporným přínosem pro naši znalost oxymonád a jejich symbiontů. Získaná data mají navíc významnou hodnotu pro vědeckou veřejnost a budoucí výzkum oxymonád. Autorka, dle mého názoru, zcela splnila požadavky na Diplomovou práci na Přírodovědecké Fakultě Univerzity Karlovy, a proto ji s potěšením doporučuji k obhajobě s hodnocením výborná.

Mgr. Martin Kolisko, PhD
Laboratoř Genomiky a Diverzity Prvoků
Parazitologický Ústav, Biologické Centrum, AVČR
Branišovská 31, České Budějovice, 370 05
kolisko@paru.cas.cz
+420387775478

Otázky a komentáře pro autorku:

1. Na stránce 12 autorka uvádí: „Do současnosti bylo popsáno 15 různých druhů *Polymastix* (Tab. 1), přičemž jen z larev nosorožíka *Oryctes* rhinoceros byly popsány čtyři z nich – *P. arangabadensis, P. krishnamurthy, P. oryctesae* a *P. melolonthae*. Je otázkou, zda není tato diverzita nadhodnocena. Relevance některých dalších druhů bývá též diskutována“ Jaký postup by autorka zvolila při řešení, zda se skutečně jedná o různé druhy?

2. Autorka provedla analýzu pro redukci artefaktu přitahování dlouhých větví za pomoci odstraňování jednotlivých nejdelších větví, což je pro jednogenovou analýzu asi nejjednodušší a nejelegantnější řešení.

    a. Jaké další metody pro potlačení, případně odhalení artefaktu přitahování dlouhých větví jsou autorce známy?
    b. Může získání více dat do analýzy zlepšit nebo zhoršit přitahování dlouhých větví?

3. Je zjevné, že autorka nemohla provést kompletní analýzu genomu *Polymastixe* v časovém rozpětí diplomové práce. Nicméně se nabízí následující otázka. Na základě prezentovaných dat se tento genom zdá být značně menší než genomy příbuzných organizmů. Provedla autorka práce jakoukoli další analýzu tohoto genomu – například množství a velikost intronů, vzdálenost mezi geny atd…?

4. Jak by autorka dále postupovala při pokračování analýz získaných dat?