

Oponentský posudek disertační práce Ondřeje Borovce na téma:

Houbové symbiózy v kořenech mořských trav rodu *Posidonia*: distribuce, fenotypová a genotypová variabilita a potenciální ekofyziologický význam

Předložená disertační práce má klasickou podobu, tj. obsahuje literární přehled, metodickou část, výsledky a diskusi. Prezentuje výzkum, který byl publikován v celkem 4 časopiseckých publikacích, které nejsou přímo součástí disertační práce, disertační práce však na ně odkazuje. O. Borovec je u jedné práce prvním autorem, u ostatních je prvním autorem školitel. V disertační práci je uveden podíl O. Borovce na jejich vzniku, který je evidentně podceněn. Odmítám uvěřit, že například v publikaci uvedené na prvním místě se pouze „podílel na zpracovávání vzorků, přípravě preparátů, mikroskopickém pozorování a získávání fotografií“ nebo že v publikaci uvedené na druhém místě se „podílel na kultivaci vzorků“. To by vlastně znamenalo, že vykonával pouze laborantské práce. Odhaduji, že ve skutečnosti v diskusi se školitelem také spoluurčoval koncepci práce a metodiku.

Téma práce je zajímavé a vědecky přínosné. Symbióza mořských trav má řadu obecně biologických aspektů, které souvisí s adaptací rostlin na vodní prostředí a které by mohly vést i k pochopení faktorů, které limitují růst rostlin ve vodním prostředí. Konkrétním přínosem práce je popis jednoho houbového symbionta/endofyta, který má na danou rostlinu velmi úzkou vazbu.

Text práce trpí některými nedokonalostmi, například větné stavby a interpunkce, a jsou v něm překlepy. Autor používá někdy velmi specifického jazyka („Tato asociace se navzájem ovlivňuje s výskytem kořenového vlášení...“ - str. 7 nahoře). Roztomile nesrozumitelná je například vsuvka v závorce v první větě 3. odstavce na str. 33.

Literární přehled je detailní a pravděpodobně vyčerpávajícím způsobem předvádí dosud relativně nehojně dostupné literární zdroje. Působí poučeným dojmem a ukazuje současný stav poznání v oblasti výzkumu mořských trav.

Méně důvtipný čtenář, který navíc není detailně zběhlý v ekologii, zajisté ocení popisy různých typů symbiózy uvedené na str. 10, na druhé straně se však nedozví řadu metodických detailů, které by byly důležité pro posouzení vhodnosti použitých postupů. Například se nedozví, jaké primery byly použity v PCR popisované na str. 24, kde je ale uveden program termocykléru. Naopak se dozví jaké primery byly použity při amplifikaci materiálu z mikrodisekce pomocí nested PCR popisované na str. 25, v tomto případě mu však pro změnu zůstanou utajeny příslušné teplotní programy.

Čtenář bude také překvapen, když se v diskusi v posledním řádku na str. 33 dozví, že autor provedl pyrosekvenaci jakýchsi vzorků a počne se shánět po detailech. O pyrosekvenaci však nenajde v metodice ani ve výsledcích žádnou zmínku, což v něm vyvolá dojem, že pravděpodobně jde o nedůležité či nepovedené výsledky, o kterých není třeba se dále šířit. Čtenářovy rozpaky však dále gradují zjištěním, že zmínka o pyrosekvenaci se vyskytuje i v abstraktu, zřejmě tedy nejde o tak bezvýznamné výsledky. Prosím, aby tento úkaz autor při obhajobě vysvětlil.

Práce obsahuje kapitolu, která je nazvána „Úvod do problematiky“. Tato část není podložena literárními odkazy ale nalézáme v ní řadu tvrzení, která by měla být literárně doložitelná (například obecné pasáže o symbióze nebo o mořských travách). Srovnáme-li obsah tohoto „Úvodu“ s dalšími

částmi disertační práce, nacházíme zde některé redundantní informace, které se opakují například ve „Výsledcích“ či v „Diskusi“ (viz např. informace o identitě majoritního endofyta). Je otázka, zda má mít úvod tento charakter.

Autor na str. 15 vytyčuje cíle práce, které byly splněny. Tato skutečnost by mohla být explicitně konstatována v „Diskusi“ a mohlo by být rekapitulováno, jaké výsledky (jaké publikace) se vztahují ke splnění kterých cílů. Autor také naznačuje, že byly vytyčeny pracovní hypotézy (str. 33 dole). Bylo by vhodné tyto hypotézy v disertační práci uvést a jejich testování v textu komentovat.

Autor zmiňuje problémy s kultivací endofytních hub posidonie, které spočívají v neochotě růst trvale v kultuře (str. 34 dole). To je jedním z důležitých faktů, které posuzovaná práce přináší. Je otázkou, co je příčinou této kultivační neochoty endofytů (charakter výživy, parametry prostředí, další organismy?). Domnívám se, že tento aspekt práce by si zasloužil mnohem větší pozornost, protože má praktické důsledky (kultivace mycelia k experimentálním účelům).

Jak si autor vysvětluje selhání mikrodisekce jako zdroje materiálu pro sekvenování? Je možné, že houba nenes ve svém rRNA genu sekvenční motivy rozpoznávané použitými primery. Pak by ale bylo vhodné hledat alternativní metodu získání sekvenčních informací potřebných k identifikaci symbionta. Pokud má autor přístup k „next generation sequencing“, nabízí se využití necíleného „shot-gun“ postupu.

Domnívá se autor, že selhání mikrodisekce spojené s PCR využívající v práci uvedené primery může znamenat, že skutečnými endofyty/symbionty posidonie jsou ještě jiné houby než jsou ty, které se mu podařilo kultivovat (a které se amplifikovat podařilo)?

Závěry práce odpovídají vytyčeným cílům.

Domnívám se, že obrazové přílohy a tabulky, které jsou uvedeny na konci práce by mohly být vhodněji zařazeny do textu. Protože disertační práce není v tomto případě komentovaným souborem publikací, připadal by mi tento způsob prezentace vhodnější.

Autor významným způsobem přispěl k objevu nového houbového endofyta mořských trav, vynaložil nemalé úsilí při získávání experimentálního materiálu, projevil značnou trpělivost při jeho zpracování a kultivaci a přispěl významně ke vzniku čtyř vědeckých publikací. **Proto navrhuji mu v případě úspěšné obhajoby udělit titul Ph. D.**

Oponent:

Soběnice, dne 19. 10. 2018

Doc. RNDr. Milan Gryndler, CSc.