



V Praze, 5. VI. 2019

Oponentský posudek dizertační práce

Název práce: Functioning of arbuscular mycorrhiza in relation to fungal community composition and environmental conditions

Autor práce: Mgr. Alena Voříšková

Dizertační práce se setává z vlastního textu práce členěného na Abstrakt, Úvod, Cíle, Diskusi a Shrnutí (celkem cca 25 stran) a vědeckých článků. Alena Voříšková je první autor dvou publikací s IF a jedno manuskriptu. U další publikace s IF je autorka členem autorského týmu s podílem na sběru dat a přípravě manuskriptu. Úvod práce je vyčerpávající a cíle jsou jasně definovány. Výsledky prezentované v rámci publikací a manuskriptu jsou dostatečně diskutovány a shrnuty.

Práce je koncepčně velmi ucelená a zahrnuje jednak metodickou přípravu na manipulační experimenty (Článek 1), kvantifikaci jednotlivých druhů hub (článek 2), tak aplikaci zvládnutých postupů ve dvou tematicky blízkých experimentech (článek 3, 4). Úzká zacílenost práce umožnila proniknout do hloubky dané tematiky. Představené publikace jsou vysoce kvalitní, jak po stránce designu a provedených experimentů, tak po stránce velmi kvalitního statistického zpracování a interpretace dat založené na hluboké znalosti problematiky. Práce používá model rychle rostoucí ruderalní rostliny (tolice), která žije v symbióze s dusík fixujícími bakteriemi a AM houbami. Metodicky se studie opírá o použití syntetických společenstev AM hub a manipulaci s abiotickými podmínkami kultivace. Navržené experimenty jsou cíleny na zodpovězení otázek o vlivu abiotických podmínek a o vlivu množství a složení inokula na mykorrhizu. Získané poznatky výrazně posouvají naše znalosti o fungování společenstev AM hub v raných stádiích kolonizace.



Připomínky a otázky k jednotlivým článkům jsou uvedeny níže v textu.

- 1) Článek II.- Voříšková, A., Jansa, J., Püschel, D., Krüger, M., Cajthaml, T., Vosátka, M.,

Janoušková, M., 2017. Real-time PCR quantification of arbuscular mycorrhizal fungi: does the use of nuclear or mitochondrial markers make a difference? *Mycorrhiza* 27, 577–585. (citováno 5x)

Práce se zabývala kvantifikací AM hub pomocí qPCR (nrDNA, mt DNA), mikroskopie a množství mastných kyselin. Poměr mezi množstvím mtDNA a nrDNA kopií se mezi izoláty signifikantně lišil (str. 54). Autorka uvádí fakt, že předešlá práce Krak et al. (2012) tyto rozdíly přičítá mezidruhovým rozdílům v počtu nrDNA kopií na jádro (či genom). Nicméně v případě článku II bylo množství nrDNA kopií korelováno z biomasou, bez ovlivnění druhem AM houby, což vylučuje podobnou interpretaci. Čím si autorka vysvětluje rozdíl mezi svými závěry a závěry práce Krak et al. (2012)?

Primárním cílem kvantifikace založené na qPCR je kvantifikace totální genomické DNA, jejíž množství je úměrné množství biomasy. Otázkou je zvolení vhodného markeru, který bude snadno amplifikovatelný pomocí univerzálních primerů, nebo naopak pomocí druhově specifických primerů. Z historických důvodů se používají zejména nrDNA markery, které mají zásadní nevýhodu ve variabilním počtu kopií. Využití dalšího alternativního markeru, mtDNA, zase naráží na problém nedokonalé korelace množství mitochondrií s biomasou, která je ovlivněna fyziologickým stavem.

Nabízí se využití některých jednokopiových jaderných genů. Byl tento typ markerů využit při kvantifikaci AM hub?

Další možností je přímá kvantifikace počtu a velikosti jader AM hub ve vzorku. Logika tohoto přístupu vychází z faktu, že velikost (tedy spíš objem) jádra je korelován s objemem buňky, což platí u většiny Eukaryot. Pokusil se někdo ve vašem oboru o kvantifikaci AMF jader pro stanovení biomasy těchto hub? Zatímco použití nrDNA je zatíženou chybou vycházející z mezidruhových a mezi-izolátových rozdílů v počtu nrDNA kopií na genom (a jádro), přímý počet jader stanovený např.



pomocí průtokové cytometrie tento „bias“ postrádá. Tato metodika navíc umožňuje rozlišit různé druhy hub pomocí velikosti genomů, či druhově specifických fluorescenčních práb.

- 2) Článek III. Voříšková, A., Jansa, J., Püschel, D., Vosátka, M., Šmilauer, P., Janoušková, M., 2019.

Abiotic contexts consistently influence mycorrhiza functioning independently of the composition of synthetic arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Mycorrhiza* 29, 127–139.

Článek naráží na problematiku „species abundance distribution“ (SAD), aniž by čerpal ze znalostí tohoto rozsáhlého tématu a používal patřičnou terminologii a popisné statistické testy. Dumbrell et al. (2010) udává u AM hub jen lognormální či „broken stick“ rozložení četností jednotlivých druhů. Autorka článku III se pak zaráží nad velmi odlišným pattern ve své studii, kde byla daleko větší dominance jednoho druhu. Pro společenstva s extrémně nízkou diverzitou, či přítomností stres tolerantních hub, je typické geometrické rozdělení. Dle jakého modelu rozdělení by šlo nejlépe popsat SAD druhů ve vaší studii?

- 3) Článek IV. Are mycorrhizal benefits influenced by the quantitative composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities? (Alena Voříšková, Jan Jansa, David Püschel, Miroslav Vosátka, Martina Janoušková) (manuskript).

Tato studie navazuje na předchozí práci. Tato práce sledovala vliv celkové četnosti i proporce AM druhů na benefit pro rostlinu a přináší mnoho originálních výsledků. Práce ukazuje, že složení komunit AM hub v raných sukcesních stádiích je primárně ovlivněno chováním AM hub, spíše než selekcí hostitelské rostliny. Interpretace dominance *R. intraradices* (stejně jako v článku III) je založena na faktu, že tento druh je R-stratég s krátkým životním cyklem, rychlou schopností kolonizace a velkou produkcí spor. Nicméně i takto „zjevné“ vysvětlení je třeba podrobit experimentálnímu testování, protože oba stávající články používaly jen jeden rychle rostoucí druh. Takový pokus by konkrétně musel obsahovat více rychle rostoucích druhů a musel by odfiltrovat vliv taxonomie (tj. tyto druhy by musely být taxonomicky blízké i vzdálené). Podobný experiment



by mohl zodpovědět, zda dominance *R. intraradices* je dána schopností rychlé kolonizace, či jinými proměnnými. Je u AM vůbec možné získat sadu druhů s podobnými vlastnostmi a byly podobné studie již publikovány?

Dílčí komentáře

- 1) Strana 11. Termín „aseptic mycelium“ je lépe nahradit používanějším „aseptate“
- 2) Na straně 12 autorka uvádí, že houba poskytuje zdroje uhlíku ve formě cukrů. Nicméně recentní studie ukazují, že významným zdrojem uhlíku jsou také rostlinné lipidy.
- 3) Upozorňuji na nekonzistentní použití názvu řádu Glomerales (správná verze) a Glomales (orthographická varianta a synonymum předešlého).
- 4) Pojem Nika je používán nekonzistentně. Konkrétně je použit pro „habitat“ (tj. root niche, p. 15, 77, 78, 120). Nicméně pojen nika označuje, souhrn životních abiotických a biotických podmínek, který daný druh reálně či potenciálně využívá. Dominantní teorie předpokládá, že každý druh má unikátní niku. V tomto smyslu termín autorka také používá na stránce 21 a jinde. Zde bych poukázal například na citovanou práci Lekberg et al. (2007).
- 5) V abstraktu a na dalších místech (p. 22, 117) se používá termín *Medicago* sp., místo správného *Medicago* spp. (označení více druhů), či *Medicago* (označení pro celý rod). Přímou v publikacích je použití správné.

Mgr. Miroslav Kolařík, Ph.D.

Laboratoř genetiky a metabolismu hub,
Mikrobiologický ústav AVČR, v.v.i