

Oponentský posudek doktorské dizertační práce

Autor: Mgr. Lucia Žifčáková

Název: Molecular biology and ecology of microbial decomposition of plant-derived biopolymers in forest ecosystems

Předkládaná práce řeší schopnost hub a bakterií rozkládat jednoduché a komplexní organické látky v půdním prostředí. Práce přináší důležité a nové poznatky v tomto oboru. Za velice cenné považuji výsledky získané z kultivace zástupců kmene Acidobacteria. Tento kmen je zatím stále málo prozkoumán a jakékoli nové informace o jeho zástupcích a funkčních vlastnostech je velice cenným přínosem. Musím také vyzdvihnout kombinaci jak moderních molekulárně biologických metod (metatranskriptomika) tak klasických kultivačních metod, které se v práci velmi dobře doplňují.

Práce je prezentována formou pěti článků (z toho čtyři již byly publikovány v zahraničních impaktovaných časopisech). Jeden článek by zaslán k recenzi. U dvou článků je autorka disertační práce prvním autorem. Články vyšly v kvalitních časopisech zaměřených na ekologii půdních mikroorganismů. Články na sebe logicky navazují a vzájemně tvoří ucelený soubor naměřených dat.

Rozsah úvodní části mi přijde svou délkou až nadstandardní. Jelikož je práce prezentována formou 5 článků, mohla by být úvodní část klidně o něco kratší a méně obecnější a více zaměřena např. na specifické skupiny mikroorganismů a lokality, které autorka studovala a proč byly právě tyto mikroorganismy a lokality vybrány. Některé obrázky v úvodu mi přijdou příliš obecné a asi ne úplně vhodné, jelikož neukazují konkrétní informace vztahující se k práci. Jedná se např. o obrázky 3, 4 a 5. Místo nich by podle mne byly mnohem lepší nějaké koncepční obrázky nebo tabulky. Např. místo obrázku 3 by šlo ukázat, jak se v lesním ekosystému obecně mění složení bakterií a hub s hloubkou, jak se mění aktivita a funkční skupiny, enzymová aktivita, atd. Myslím, že skupina, kterou je autorka součástí, již publikovala celou řadu takovýchto výsledků, a že by určitě koncepční obrázek, vytvořený z těchto dostupných dat, byl mnohem lepší než obecný obrázek půdního horizontu s naznačeným L a H horizontem. Stejně je tomu i u obrázku 4. Každý si asi umí představit, jak vypadá les v létě a v zimě. Lépe by se sem podle mého názoru hodil obrázek 7, ukazující koncepční představu, jak fungují půdní procesy v létě a zimě. Obrázek 5 zase ukazuje 3D strukturu lignocelulózy. Opět mi tento obrázek nepřijde moc vhodný. Hodil by se asi lépe do práce studující strukturu lignocelulózy, ale bez např. naznačení jeho štěpení různými enzymy, jak je to např. u obrázku 6 hezky znázorněno pro celulózu, nevystihuje to, o čem je disertační práce.

Úvodní pasáže jsou také pěkně členěny do podkapitol, kdežto v kapitole „Výsledky a diskuse“ již toto členění není. To je podle mě škoda, protože v této části se pak čtenář hůře orientuje. I přes

tyto výhrady, si myslím, že celkově forma a rozsah úvodní části je plně dostačující, souhrn dosavadních znalostí a i s drobnými stylistickými chybami (např. občas se místo „OTU“ vyskytuje v textu „OUT“ nebo místo „exudáty“ je v textu „exsudáty“, což zapříčiňuje zapnuté automatické opravy ve Wordu) umožňuje čtenáři se zorientovat ve studované problematice. Velice oceňuji i stručné zhodnocení výsledků všech pěti článků v závěru této části disertační práce. Poslední kapitola pak obsahuje pět zmiňovaných článků.

Další mé dotazy směřují již na samotné výsledky a hlavní závěry disertační práce. Úvodem musím říci, že i když 4 články prošly již recenzním řízením, objevují se např. v článku 5 stále drobné překlepy, které by určitě stálo opravit zasláním oprav do příslušného časopisu.

Překlepy v článku 5:

Figure 1, 2: „Fermicutes“, správně „Firmicutes“;

Figure 2: „ProteoBacteria“, správně „Proteobacteria“.

Specifické dotazy k hlavním závěrům disertační práce:

První závěr (článek I) vyzdvihuje důležitost ekofyziologických znaků oproti taxonomickému zařazení. Toto je podle mého názoru velice důležitý a zásadní závěr. Závěr byl učiněn na základě rozsáhlého testování čistých houbových izolátů (přes 100), což velice oceňuji. Data byla však získána pouze pomocí API ZYM testů, které jsou semikvantitativní. Výhodou těchto testů je rychlost, s jakou lze testovat velké množství vzorků, nevýhodou je však nemožnost získat základní kinetické údaje o studovaných enzymech (např. hodnoty K_m , V_{max} , k_{cat} , atd.).

- Z toho důvodu můj dotaz směřuje na to, jak a jestli testy s vybranými čistými kulturami pokračují i v tomto směru nebo zda jsou třeba již tato data dostupná? Pokud ne, jak by autorka kinetické parametry (K_m , V_{max}) získala a jak by se daly tyto údaje využít při interpretaci na reálné podmínky?

Podobný komentář směřuje i na závěry v článku II. Zde byly opět použity data ze semikvantitativní analýzy pomocí mikrodestičkové inkubace s předem definovanými substráty v systému BIOLOG. I zde by určitě bylo na místě získaná data podpořit podrobnějšími analýzami, třeba jen pro vybrané izoláty a podrobněji proměřit kinetické vlastnosti jednotlivých enzymů, ale třeba i teplotní a pH optima. To by bylo např. v případě bakteriálních izolátů z málo popsaného kmene *Acidobacteria* velmi přínosné.

- Jsou tato data k dispozici? Pokud ano, prosím o stručný komentář k těmto datům.

K formulaci závěrů vyplívajících z článku I mám ještě jeden komentář. V disertaci autorky zmiňuje, že „...decomposition traits are shaped by ecophysiology rather than taxonomy...“. Termín „decomposition trait“ podle mě není úplně správný. Původní cíl autorů uváděný v článku I byl míněn takto: Otestovat vliv ekofyziologických znaků a taxonomického zařazení na dekompoziční schopnosti (tj. produkce různých enzymů) vybraných houbových izolátů. Proto si myslím, že termín „dekompoziční znak“ (decomposition trait) není úplně správný. U jednotlivých hub nebo bakterií můžeme mluvit o ekofyziologických znacích, můžeme ale mluvit o znacích dekompozice? Jaké různé znaky může mít dekompozice?

- Mohla byste prosím objasnit jak chápete termín „decomposition trait“?

V dalším závěru autorka vyzdvihuje důležitost fixovaného C rostlinami, který tak skrze kořenové exudáty nebo opad ovlivňuje složení mikrobiálního společenstva převážně v letních měsících.

- Mohla byste krátce pohovořit o tom, jaké půdní horizonty jsou více ovlivněny opadem a jaké kořenovými exudáty a proč?
- Mohla byste dále porovnat amplikonové sekvenování z celkové RNA a sekvenování mRNA (tzv. metatranskriptom) a to z hlediska taxonomického a funkčního rozlišení.
- Jak byste ověřila, že C nafixovaný rostlinou opravdu „doteče“ až do kořenů, kde skrze exudáty ovlivní mikrobiální společenstvo? Dalo by se zjistit, které skupiny bakterií a hub jsou přímo ovlivněny nafixovaným C?
- Mohla byste krátce pohovořit o vlivu přítomnosti sněhové pokrývky na aktivitu mikrobiálního společenstva v opadu a v?

Závěrem musím říci, že práce Mgr. Lucie Žifčákové je i přes výše zmíněné výtky velmi kvalitní a přináší velmi zajímavé poznatky o roli bakterií a hub při rozkladu rostlinných biopolymerů. Práci velice rád doporučuji přijmout k obhajobě a po jejím úspěšném absolvování doporučuji udělení příslušného akademického titulu.

V Českých Budějovicích, dne 12.3.2017


Ing. Jiří Bárta, Ph.D.