

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Jany Voříškové s názvem

## **Molekulární biologie půdních hub, podílejících se na rozkladu opadu v lesních ekosystémech**

Předložená disertační práce má styl shrnujícího přehledu členěného na Poděkování, dvojjazyčný Abstrakt, Úvod, Cíle, Materiál a metody, Diskusi, Závěry a Seznam literatury v celkové délce 53 stran. Po tomto shrnujícím přehledu následuje 5 časopiseckých publikací v mezinárodních periodikách, včetně 2 publikací v prestižním ISME Journal.

Vzhledem k tomu, že všechny zmíněné práce prošly před svým přijetím velmi náročným oponentním řízením, odpovídá i jejich úroveň velmi vysokému standardu. Práce oponenta je proto značně nevděčná a spočívá zejména v posouzení syntézy výsledků jednotlivých článků a jejich vzájemné koherence.

V zaměření jednotlivých publikací lze vysledovat 2 zájmové směry: popisně ekologický (dvě první práce v ISME Journal, práce v New Phytologist) a zacílený na mechanismy ovlivňující rozklad lesního opadu s důrazem na enzymologii (posledně uvedené 2 práce). Podle ročníků publikací to však neodráží postup výzkumu v čase, práce na obou tématických okruzích zřejmě probíhají paralelně a vzájemně se prolínají a doplňují.

Ze všech zahrnutých publikací je evidentní, že byla použita metodika, která je v současné době pro daný účel optimální: kombinace masivně paralelní sekvenace environmentální DNA s daty popisujícími rozkladnou aktivitu přítomných organismů. To je předpokladem pro získání výsledků, které umožňují si představit složení a funkci společenstva půdních organismů. Je jasné, že tyto výsledky stály mnoho úsilí i finančních prostředků, výsledek však je na odpovídající úrovni.

Ani ty nejpokročilejší metody však nejsou bez problémů a úskalí. Protože většinou používají PCR, může např. nastávat jev, který je označován jako „PCR-bias“, a který znamená, že i při molekulárním přístupu k hodnocení složitých společenstev organismů může docházet k významným zkreslením skutečnosti diskriminací některých OTU v procesu amplifikace. Ptám se, zda se v průběhu prací takové problémy objevily a pokud ano (např. výsledky článku I, jak je naznačeno v příslušných „Conclusions“), jak ovlivnily interpretaci výsledků ostatních prací.

V Cílech (Aims, str. 30) je uvedeno, že v práci I se ukázalo, že saprotrofní taxony byly více metabolicky aktivní tehdy, když nenastávala alokace fotosynteticky fixovaného uhlíku do „podzemí“ (je míněn kořenový systém). Nepochopil jsem, z jakých výsledků v práci I toto tvrzení vychází a prosím, aby bylo vysvětleno. Jedná se o analýzu v jednom časovém okamžiku a proto nemáme možnost jednoduše vyvozovat změny aktivity srovnáním mezi obdobími kdy alokace do kořenů nastává a obdobími kdy nenastává.

Práce III se zabývala mj. stratifikací houbových taxonů v rámci půdního profilu, tedy nikoli pouze houbami rozkládajícími opad. Diverzifikace organické hmoty v půdním profilu, se kterou lze výskyt taxonů (OTU) hub korelovat, znamená, že máme k dispozici organickou hmotu různého stáří a v různém stupni rozkladu. Určitě by bylo bývalo možné věnovat alespoň nějaké úsilí také stupni humifikace organické hmoty v jednotlivých hloubkách a diskutovat možnost účasti houbových taxonů v humifikačním procesu (metodika je relativně nenáročná, viz. např. práci Martins et al., 2011, Soil Till. Res 111: 231-235). Tento proces má zásadní důležitost, protože tvorba humusu je určujícím faktorem pro funkci půdy a její stabilitu. Přesto, že celá disertační práce se týká role hub v procesu rozkladu jehož výsledkem je vznik humusu, o vlastní humifikaci se v ní nedovídáme. Částečně je to pochopitelné, protože práce je zaměřena primárně na rozklad opadu, domnívám se však, že by proces humifikace mohl být zmíněn alespoň v Úvodu, ve vztahu k práci III (případně v souvislosti s enzymovými aktivitami, které se při humifikaci uplatňují – oxidativní polymerizace/kondenzace). Ptám se, proč nebyla humifikace významněji pojednána: jde tu o teoretický problém (obtížnost získání kauzálních souvislostí mezi biologickou složkou půdy a množstvím a kvalitou humusu) nebo o problém praktický (šíře zájmu disertační práce je již natolik široká, že by zahrnutí dalšího důležitého problému nebylo únosné)?

Práce IV pojednává o degradačních vlastnostech izolátů mikroskopických hub získaných z vrchních vrstev lesní půdy. Tato práce poněkud metodicky (nikoli tématicky) vybočuje ze „standardu“ ostatních prací, protože se zabývá kultivovanými mikroorganismy. Je velmi zajímavá a do značné míry inovativní, má však jeden důležitý nedostatek: nehodnotí významnost abundance studovaných mikroskopických hub v půdě dané lokality alespoň prostřednictvím analýzy amplikonu rDNA nebo optimálně analýzou amplikonu zpětně přepisované rRNA. Není jasné, proč tomu tak je, výše zmíněné hodnocení by podstatně zvýšilo vypovídací hodnotu výsledků. Z vlastní zkušenosti vím, že „molekulárně“ abundantní OTU hub (i bakterií) se zdaleka nemusí jevit jako abundantní za použití kultivačních metod a i zcela „molekulárně“ převládající taxon nemusí být vůbec izolovatelný. Naopak snadno izolovatelné druhy/taxony mohou být přítomny ve studovaném materiálu jako oportunisté a nemusí zde plnit žádnou důležitou funkci. Tuto skutečnost chápu jako neuralgický bod současné půdní mikrobiologie. Zaslouží si významnou pozornost a diskusi s využitím starších dat z doby, kdy ještě nebylo využíváno molekulárně genetických metod.

Tvrzení o pozitivní korelaci mezi rychlostí degradace opadu a koncentrací dusíku v něm, které vychází z výsledků zejména posledního zařazeného článku, je zajímavé a je v souladu s dalšími pracemi o rozkladu opadu. Protože je z hlediska ekosystému podstatný zejména výsledek rozkladného procesu, tedy tvorba humusu a jeho vlastnosti, domnívám, že by bylo vhodné v práci V sledovat nejen počáteční koncentraci dusíku v opadu ale také jeho výslednou koncentraci, která by popisovala imobilizaci tohoto prvku v rozloženém materiálu a jeho potenciální dostupnost pro organismy. Umožnilo by to lépe pochopit bilanci rozkladu.

Práci celkově hodnotím po vědecké stránce jako velmi kvalitní, vhodně zaměřenou a přínosnou. Nelze než opětovně zmínit vysokou kvalitu zařazených publikací. Také po jazykové stránce je práce na výši. Nalezl jsem jen několik drobných nedostatků, které ostatně unikly i recenzentům některých zařazených prací při recenzním řízení.

Jana Voříšková prokázala své schopnosti koncepční i experimentální, zvládla řadu velmi náročných metodických postupů a podle počtu autorů některých zařazených publikací musela prokázat i schopnosti manažerské. Při plánování experimentů a diskusi výsledků musela uplatnit svou orientaci v příslušné literatuře a kritický přístup k datům svým i literárním. Prokázala tím schopnost vědecky pracovat. **Proto navrhuji výborné hodnocení disertační práce a udělení vědecké hodnosti Ph. D.**

V Praze, dne 19. 9. 2013

Doc. RNDr. Milan Gryndler, CSc.

Mikrobiologický ústav AVČR, Praha