

**Název: Physiology and ecology of saprotrophic basidiomycetes degrading dead plant biomass**

Autor: **Vendula Valášková**

Doktorský studijní program: **Mikrobiologie**

**Téma práce, cíle a metodický přístup**

Dizertační práce Mgr. Venduly Valáškové pojednává o schopnostech modelových druhů saprotrofních bazidiomycetů rozkládat lignocelulózový komplex v opadu a dřevě a o vlivu dřevokazných hub na bakteriální společenstva v rozkládajícím se dřevě. Saprotrofní bazidiomycety rozkládající dřevo a opad představují klíčové organizmy nejen pro lesní ekosystémy. Díky svému silnému enzymatickému aparátu mají schopnost rozkládat strukturní polysacharidy v rostlinných pletivech, fenolické látky a řadu dalších často obtížně rozložitelných sloučenin. Jsou schopny transportovat živiny na velké vzdálenosti ve specializovaných morfologických útvech, recyklovat živiny imobilizované v myceliu, podílí se na humifikaci a tudíž dlouhodobé depozici uhlíku a nepřímo ovlivňují mykorhizní houby a tím i rostlinná společenstva. Jejich studium má dlouhou tradici a jeho význam spočívá nejen v pochopení základních procesů v přírodě, ale i v možnosti praktického využití těchto hub v biotechnologiích.

Existuje celá řada metod, které umožňují studovat tyto houby a jejich schopnosti v podmínkách *in vitro* i *in situ*. Autorka se ve své vlastní práci zaměřila na vybrané druhy bazidiomycetů rozkládajících opad, které izolovala z plodnic ze studijních ploch a které následně využila v sérii laboratorních experimentů. Sledovala jejich enzymatickou aktivitu ve sterilním opadu a následně se podílela i na studiu těchto hub v mikrokosmových systémech simulujících přirozené podmínky v opadu a na studiu enzymatických aktivit přímo na experimentálních plochách. Stanovovala aktivitu enzymů podílejících se na rozkladu lignocelulózového komplexu, chitinu, hemicelulózy a dalších složek dřeva a opadu. Nespokojila se s jednorázovým stanovením enzymatických aktivit, ale sledovala jejich změny v průběhu několikátýdenních kultivací a v terénu v různých sezónách. V neposlední řadě se zaměřila i na sledování vlivu dřevokazných hub na bakteriální populace v kolonizovaném dřevě.

Autorka obsáhla metody izolace hub z opadu, identifikace na základě molekulárních znaků, kultivace v experimentálních systémech, stanovení aktivit celé řady enzymů *in vivo*, *in vitro* a *in situ*, izolace environmentální DNA a vyhodnocení diverzity mikroorganismů metodou DGGE. Ve všech případech používala nejmodernější současné metody.

**Struktura práce**

Dizertační práce sestává z obsáhlého úvodu, který rozebírá studovanou problematiku, přehledu pěti článků publikovaných v impaktovaných odborných časopisech (a dvou dosud nepublikovaných manuskriptů), souhrnné diskuze výsledků ze všech studií a závěru, v němž jsou shrnuty nejvýznamnější výsledky.

Úvod velmi přehledně shrnuje dosavadní znalosti o hlavních strukturních komponentech dřeva a opadu, jejich degradaci, enzymech a metabolických drahách sloužících k jejich degradaci a nejdůležitějších organizmech (saprotrofní houby a bakterie), které se degradace účastní. Dále se autorka zabývá interakcemi mezi saprotrofními houbami a bakteriemi a aktuálními trendy v analýze mikrobiálních společenstev v půdě (opadu) a dřevě. Text je velmi čtivě psán, přehledně členěn na podkapitoly, doplněn několika tabulkami a schématy.

Jedinou slabinu textu vidím v taxonomickém vymezení ekologické skupiny hub označovaných jako *litter decomposing fungi* (LDF) v kapitole 1.3.1. Souhlasím s tím, že LDF houby jsou skupinou čistě ekologickou, ale jejich vymezení v textu je poněkud nejasné. V první řadě se mohla autorka vyvarovat termínu „deuteromycetes“, zvláště pak ve spojení „askomycety a deuteromycety“ je jeho použití nesmyslné. Deuteromycety je zastaralý název pro anamorfní druhy, které patří z valné většiny mezi askomycety. Navíc v tabulce s LDF houbami spadly omylem do bazidiomycetů dva askomycety – rody *Cudonia* a *Spathularia*. Podobně mi není jasné, proč jsou druhy „... využívající celulózu a jednoduché sacharidy“ řazeny mimo LDF houby, které rozkládají m.j. i celulózu a když mají možnost, určitě využívají i jednodušší sacharidy.

Přehled publikací autorky je úctyhodný a obsahuje pět článků nebo manuskriptů z experimentální práce a dva články (respektive článek a manuskript) typu review. Jejich řazení I. – VII. mi není moc jasné, není ani tématické, ani chronologické. Autorka podala ke každému článku krátký text týkající se studované problematiky a krátký souhrn cílů, hypotéz a metodických přístupů. Domnívám se že první část – úvod do studované problematiky – je nadbytečný, neboť duplikuje informace uvedené v úvodu celé práce a některé myšlenky se navíc opakují u více článků, jen jsou napsány jinak (např. že saprotrofní houby jsou důležité pro rozklad opadu). Další část by mohla obsahovat více i vlastní konkrétní výsledky nebo závěry.

Nic z těchto formálních připomínek ale nesnižuje vysokou odbornou úroveň publikací. O jejich kvalitě hovoří i to, že byly publikovány v časopisech s vysokým impakt faktorem, jejich spoluautory jsou renomovaní domácí i zahraniční vědečtí pracovníci a například článek IV zaměřený na podrobnou charakterizaci celulólytických enzymů produkovaných druhem *Piptoporus betulinus* byl od doby publikace (2006) již pětkrát citován.

Rozsáhlá diskuze bohužel není dělená na podkapitoly, takže souvislý text s jednou tabulkou na osmi stránkách je poněkud nepřehledný. Přesto je ale patrná linie celé kapitoly od celulólytických enzymů dřevokazných hub přes enzymatické aktivity a chemické změny v opadu působené LDF houbami až po vliv hub na bakteriální společenstva a metody studia bakteriální diverzity a interakcí s houbami.

Mezi nejdůležitější závěry z vlastní práce patří charakterizace celulólytického systému bazidiomycetů včetně málo známých biochemických drah, popis časových a prostorových změn v produkci enzymů podílejících se na rozkladu lignocelulózy v opadu a optimalizace a využití metody DGGE pro charakterizaci mikrobiálních společenstev v rozkládajícím se dřevě a opadu.

### **Otázky do diskuze**

1) Čím si vysvětlujete, že *H. fasciculare*, která patří mezi typické houby bílé hniloby (WR), rozkládala opad v experimentálních podmínkách způsobem, který byl odlišný pro WR, a navíc téměř neprodukovala Mn-peroxidázu (článek I)? Jsou jiné údaje v literatuře, že se liší její aktivita ve dřevě a v opadu?

2) V průběhu několikátýdenní kultivace hub na opadu jste zaznamenala změny v aktivitě u všech enzymů. Jsou známy výkyvy enzymových aktivit i v kratších časových intervalech (řádově hodiny) stanovené např. u submerzních kultur hub?

3) Jak se liší aktivita celulolytických enzymů v plodnicích a myceliu bazidiomycetů? Je možné využít stanovení enzymatických aktivit v plodnicích pro charakterizaci enzymatického vybavení určitého druhu, který je např. obtížně kultivovatelný?

4) V práci zabývající se sledováním vlivu druhu *H. fasciculare* na bakteriální společenstva srovnáváte počty a spektra bakterií s údaji publikovanými v jiných studiích s jinými dřevokaznými houbami. Má *H. fasciculare* odlišný vliv na asociované bakterie oproti jiným WR houbám?

5) Byla ve vzorcích dřeva s plodnicemi *H. fasciculare* detekována i DNA jiných druhů hub? Jestli ano, může mít vliv na bakterie i doprovodná sekundární mykoflóra?

#### **Finální hodnocení**

Předložená dizertační práce prezentuje výsledky špičkové vědecké práce plně srovnatelné ve světovém měřítku. Autorka prokázala schopnost zvládnout široké spektrum metodických přístupů a komplexně řešit studovanou problematiku. Práce splňuje podmínky kladené na doktorské disertační práce v oboru Mikrobiologie a práci doporučuji k obhajobě.

V Praze, 9. 1. 2009

Mgr. Ondřej Koukol, Ph.D.  
katedra botaniky, UK v Praze, PřF