

Posudek oponenta na diplomovou práci
Jméno oponenta: <i>RNDr. Libor Mrnka, Ph.D. /Botanický ústav AVČR, v.v.i/</i>
Datum: <i>8.9.2015</i>
Autor: <i>Bc. Markéta Charvátová</i>
Školitel: <i>RNDr. Petr Baldrian Ph.D.</i>
Název práce (ČJ): <i>Změny struktury a funkce společenstva hub v půdním prostředí po ukončení toku asimilátů u smrku ztepilého (<i>Picea abies</i>)</i>
Název práce (AJ): <i>Change of structure and function of a fungal communities in the soil environment after the end of the flow assimilates with Norway spruce (<i>Picea abies</i>)</i>
Cíle práce: Jsou jasně definované. Primárně šlo autorce o popsání vývoje společenstva hub asociovaného s kořeny, v rhizosféře a okolní půdě smrkového porostu v krátkodobém horizontu po jeho pokácení. Dále si dala za cíl charakterizovat některé související živinové parametry, enzymatické aktivity a izolovat dominantní druhy hub v kořenech s několikaměsíčním odstupem po zásahu a stanovit jejich enzymatické degradační schopnosti.
Struktura (členění) práce Rozsah práce (počet stran): 88 Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? <i>ano</i>
Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, seznam literatury) <i>velmi dobrá (text je standardně rozčleněný na oddíly a odstavce, obrázky a grafy přehledně uspořádané a označené, a seznam literatury přehledný)</i>
Logická stavba a jazyková úroveň práce <i>DP je standardně členěná s logicky navazujícími částmi, jazyková úroveň práce je dobrá. Místy se autorka dopouští stylistických neobratností (např. tvrzení "baktérie jsou v půdě...distribuovány přes celý ekosystém" na str. 18, 2. věta 1 odstavec, nebo začátek dalšího odstavce je bez slova "klimatu" tautologií "změny...způsobují změny", užití neobratného sousloví "výrazné a trvalé plodnice" na str. 19, 1. odstavec, apod.).</i>
Literární přehled: Odpovídá tématu a je logicky členěn? <i>ano</i> Je napsán srozumitelně? <i>ano, ačkoli místy je poměrně stručný</i> Jsou použité literární zdroje dostatečné, relevantní a aktuální? <i>ano, autorka cituje 132 prací; literární zdroje jsou relevantní a aktuální</i> Jsou literární zdroje (včetně obrázků) v práci správně citovány? <i>ano</i>
Materiál a metody: Šíře použitých metodik: <i>značná (izolace DNA, PCR amplifikace, molekulární identifikace houbových společenstev na základě NGS sekvenace ribozomální DNA, stanovení půdních parametrů a živin, obsahu ergosterolu, měření řady enzymatických aktivit, izolace hub a jejich axenické pěstování). Z možných post hoc testů následujících po analýze rozptylu autorka volila Fišerův LSD test, který bývá kritizován pro nedostatečnou kontrolu chyb I druhu a v literatuře se již používá zřídka.</i> Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům? <i>ano</i> Jsou metody srozumitelně popsány? <i>ano</i>
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? <i>ano</i> Je dokumentace výsledků adekvátní? <i>ano</i> Je množství provedených experimentů dostačující? <i>ano</i>
Diskuze: Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? <i>ano</i> Jsou výsledky porovnávány s literaturou? <i>ano</i> Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? <i>hypotézy ano, další výhled ne</i>

Závěry (Souhrn):

Jsou závěry podloženy výsledky? *ano*

Jsou výstižně formulovány? *ano*

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Předložená diplomová práce popisuje proměnu komunity hub v smrkovém porostu po jeho vykácení a to separátně v kořenech, rhizosféře a okolní půdě. Zároveň byli identifikováni dominantní zástupci houbové komunity, vyizolována řada saprotrofních hub a naměřena jejich enzymatická degradační aktivita. Autorka v DP prokazuje schopnost zvládnout základní i pokročilé techniky související se zpracováním vzorků, jejich molekulární a enzymatickou analýzou a následným vyhodnocením dat. Získané výsledky byla schopna smysluplně diskutovat se studii jiných autorů. Cílů DP bylo dosaženo. Připomínky ke konkrétním částem DP uvádím níže v otázkách a připomínkách. Celkově hodnotím diplomovou práci Bc. Markéty Charvátové jako zcela odpovídající požadavkům na DP kladeným a doporučuji ji k přijetí.

Otázky a připomínky oponenta (řada poznámek se týká drobných pochybení nebo nepřesností, které neovlivňují celkově dobrou kvalitu DP a uvádím je zde spíše z edukativních důvodů, abych poskytl autorce zpětnou vazbu):

1. Některá tvrzení autorky jsou diskutabilní, např. "*Kořeny...představují prostředí s podstatně vyšší dostupností živin oproti okolní půdě*" str.10, 1. odstavec
2. V závorce by měly být uváděny zkratky a nikoli vlastní text, který zkracují. Viz "*ECM (ektomykorhizní) houby*" str. 10, odst. 1
3. Autorka uvádí na str. 19, že "*ECM houby mohou od své hostitelské rostliny získávat až polovinu fotosynteticky asimilovaného uhlíku*" aniž uvádí zdroj. Pokud vím, literatura uvádí podstatně nižší čísla.
4. Autorka dále uvádí, že "*Obecná odpověď ektomykorhizních hub na vyšší koncentraci dusíku v půdě však bývá spíše negativní*" s odkazem na práci Pettersson (1994) Mnohé studie skutečně popisují převážně negativní dopad hnojení N na ECM ať už na úrovni množství extraradikálního mycélia, produkci plodnic nebo kolonizaci špiček. Nicméně ukazují také, že k tomuto pravidlu existují četné výjimky, a že frekvence N-tolerantních ECM druhů po přidání N stoupá, dochází tedy k proměně ECM komunit (Nilsson a Wallander (2003) *New Phytologist* 158:409– ; Wallenda a Kottke (1998) *New Phytologist* 139: 169–; Lilleskov a kol. (2002) *Ecology* 83:104–). To podstatné ale je, že tyto studie v drtivé většině popisují efekty minerálního N přidaného v podobě amonných a dusičnanových iontů, vliv hnojení organickým N byl studován mnohem méně a může být naopak pozitivní (Plassard a kol. (2000) *Plant Cell and Environment* 23:1195–). Analogicky byl pozorován negativní efekt minerálního a pozitivní efekt organického hnojení na arbuskulárně mykorhizní houby (Gryndler a kol. (2006) *Mycorrhiza* 16:159–). Obecná odpověď ECM na zvýšenou koncentraci N tedy neexistuje, resp. je závislá mimo jiné na formě N.
5. Autorka uvádí (str. 17), že "*Na základě molekulární fylogenetické studie bylo zjištěno, že ECM vznikla ze svých saprotrofních předků několikrát nezávisle na sobě (Tedersoo et al., 2010a) přibližně před 130-180 miliony lety (Hibbett et al., 2000).*" Chci zde glosovat slova "bylo zjištěno". Zjištěny byly pro jednotlivé taxony sekvence, izotopové vzorce a schopnost tvořit ektomykorhizy na základě jejichž srovnání dospěli autoři k hypotéze o opakovaném vzniku ECM hub ze saprotrofních předků. Jakkoli silná tato hypotéza může být, jde o teorii, kterou další data a doklady buď budou dále potvrzovat nebo ji falzifikují. Uvádím to zde proto, že je klíčové, aby se každý začínající badatel naučil oddělovat fakta a jejich interpretaci.
6. Autorka uvádí (str. 30, sekce 2.5.4.), že produkce některých peroxidáz u konkrétních druhů ECM zaznamenána nebyla s odkazem na práci Baldrian (2006), čímž může u čtenáře této sekce vzniknout dojem, že ECM houby těmito enzymy nedisponují. V další sekci (2.6) však cituje práci Cullings a kol. (2008), která u r. *Suillus* aktivitu těchto enzymů popisuje. Vzhledem k celkovému téžisti DP považují důkladný popis degradačních schopností ECM za důležitý a práce Cullings a kol. (2008) (případně další články popisující enzymatické degradační schopnosti ECM jako např.

Kanufre a Zancan 1998 FEMS Microbiology Letters 161: 151– aj.) měla být v sekci 2.5.4. zmíněna. V sekci 2.6. (Půda a kořen po ukončení toku asimilátů) mi zase chybí práce, které se zabývaly interakcí ECM a saprotrofních hub v souvislosti s degradací opadu, tedy téma blízké otázkám řešeným v této DP (např. popis tzv. „Gadgil efektu“, jak shrnuje Bending (2003) New Phytol 158:228-).

7. Autorka uvádí nepřesně, že kořenové exsudáty obsahující asimilovaný uhlík jsou dodávány půdním mikroorganismům a to především ECM (str. 31). ECM však primárně nepřijímají asimiláty z exsudátů sekretovaných do rhizosféry, ale v mezibuněčném prostoru kořenové kůry prostřednictvím Hartigovy sítě.
8. Autorka uvádí na str. 31, že "K těmto ECM houbám patří *Russula*, *Tomentella*, *Xerocomus* a v hlubších horizontech *Cenococcum*." V jakém smyslu je vázán r. *Cenococcum* na hlubší horizonty, odkud autorka tuto informaci čerpá?
9. Na str. 52 je v tabulce č. 7 ukazující četnost hub u r. *Cadophora* uvedena saprotrofní ekologie. Rod *Cadophora* bývá řazen do polyfyletické skupiny DSE hub, jejichž většina zástupců je patrně saprotrofních, řada z nich jsou však endofyty s nejasnou životní strategií. V našem experimentu se smrkovými semenáčky tvořila *Cadophora finlandica* zřetelné ektomykorhizy (Mrnka a kol. 2009 Trees 23:887-), takže ekologie rodu *Cadophora* není výlučně saprotrofní. Uváděný r. *Rhizoscyphus* běžně kořeny smrku nekolonizuje, je to typický zástupce erikoidně mykorhizních hub. Jeho výskyt zde může svědčit buď o přimíšení jemných kořenů vřesovcovitých rostlin mezi kořeny smrku při izolaci DNA, případně lze spekulovat o nedostatečném rozlišení hub z agregátu *Rhizoscyphus ericeae* na základě ITS2 a záměně r. *Rhizoscyphus* s jinými houbami z tohoto agregátu, které jsou naopak v kořenech smrku četné (r. *Meliniomyces* apod.). Může to autorka komentovat?
10. Jak si autorka vysvětluje zvýšení aktivity Mn-peroxidázy v rhizosféře i okolní půdě po vykácení, které nebylo provázeno obdobnými změnami ostatních degradačních enzymů (s výjimkou celulázy u okolní půdy)?
11. V souvislosti s předešlou otázkou se chci zeptat jak si autorka vysvětluje zvýšenou diverzitu saprotrofních hub v okolní půdě po pokácení porostu navzdory snížené aktivitě většiny degradačních enzymů? Čeho je odrazem?
12. Obsah či spíše koncentrace N v kořenech a poměr C/N uvedený v grafech 29 a 30 jsou bez uvedení typu střední hodnoty (pravděpodobně průměr, nebo medián?), bez variability a bez označení signifikantních rozdílů. V grafu 30 se čtenář těžko orientuje zda je uveden poměr C/N nebo obsah C v % jak uvádí popis osy. Jak si autorka vysvětluje nezměněný poměr C/N i přes značný úbytek biomasy kořenů v průběhu měsíců po pokácení stromů? A může okomentovat dynamiku N v kořenech již pokácených stromů, kde dochází k mírné akumulaci N?
13. Není pravda, že druhy r. *Russula*, *Cortinarius* a *Lactarius* jsou nekultivovatelné (str. 69)

Návrh hodnocení oponenta:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: