

Oponentský posudek doktorské dizertační práce

Autor: Mgr. Michaela Urbanová

Název: Vegetation of post-mining sites determines soil microbial community structure and soil processes

Předkládaná práce řeší vývoj mikrobiálních společenstev na hnědouhelných výsypkách. Tyto lokality poskytují unikátní možnost studovat sukcese bakteriálních a houbových společenstev v půdě. Ty pomáhají vytvářet a formovat půdní organickou hmotu, ale i ovlivňovat osídlení a vývoj rostlinných druhů. Práce přináší řadu zajímavých poznatků týkající se vývoje složení mikrobiálních společenstev a jeho enzymatických aktivit. Právě půdní enzymy hrají jednu z klíčových rolí při rozkladu komplexních biopolymerů jako je celulóza a lignin. Svou aktivitou se podílejí na utváření půdní organické hmoty.

Pro studium vývoje mikrobiálních společenstev využila autorka kombinaci biochemických (PLFA) a molekulárně-biologických metod (microarrays, NextGen sekvenování). Tyto metody v současné době umožňují velmi podrobné analýzy složení mikrobiálních společenstev. Na jejich základě lze určit alfa a beta diverzity, tj. druhovou bohatost a odlišnosti ve složení společenstev mezi jednotlivými lokalitami, v tomto případě mezi jednotlivými sukcesivními stádii.

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

Forma a rozsah úvodní části je plně dostačující, souhrn dosavadních znalostí je přehledně členěný a i s drobnými stylistickými chybami umožňuje čtenáři snadno se zorientovat ve studované problematice. Velice oceňuji i stručné zhodnocení výsledků všech čtyř článků v závěru této části disertační práce. Poslední kapitola pak obsahuje čtyři zmiňované články.

K této úvodní části bych měl několik dotazů a doporučení, které jsou shrnuty níže.

Hned v úvodu autorka zmiňuje, že hlšina má nepříznivé biologické, fyzikální a chemické vlastnosti. Čtenář by tedy čekal nějaké podrobnější chemické analýzy (např. data o těžkých kovech, CHSK,...), biologické (toxikologické testy, BSK,...), fyzikální (CEC, vodivost, redox potenciál,...). V článcích se uvádí pouze pH a složení hlavních makroprvků. V takovýchto lokalitách mi ale připadá, že je to málo. Složení mikrobiálních společenstev může formovat

nejenom dostupný C, N a P, ale právě výše zmíněné parametry. Projekt je řešen na výsypkách dlouhodobě a podílí se na něm celá řada odborníků.

- Pokud tyto údaje existují nebo již byly publikovány v rámci řešení projektu, mohla by autorka tyto údaje uvést a vyjádřit svůj názor na to jak mohou tyto toxické vlivy ovlivnit vývoj bakteriálních a houbových společenstev?

Na straně 27 a na straně 33 autorka uvádí, že hlavním rozdílem mezi bakteriemi a houbami je to, že bakterie žijí jako unicelulární organismy a osídlují velmi úzké niky. S tímto tvrzením nesouhlasím.

- Mohla by autorka toto tvrzení obhájit a uvést konkrétní příklady z literatury. Nežijí bakterie spíše v biofilmech a mikrobiálních konsorciích, ve kterých velmi efektivně spolupracují na získávání živin z prostředí a účinněji se brání útokům predátorů? Které mikroorganismy žijí unicelulárně a které v biofilmech?

Dále na straně 33 autorka uvádí, že bakterie nežijí v úzké symbióze s kořeny rostlin oproti houbám. Na základě tohoto tvrzení uvádí předpoklady a hypotézy, kterými se v práci hodlá zabývat. V dalších částech ale uvádí, že se nevzorkovala specificky rhizosféra. Myslím tedy, že je tato pasáž mírně zavádějící a připravuje čtenáře na data z rhizosféry, které ale ve výsledcích nejsou.

- Mohla by tedy autorka popsat jak bakterie a houby žijí v rhizosféře? Jaká je vazba mezi bakteriemi a houbami v rhizosféře? Pokud existují studie nebo data z lokalit na výsypkách týkající se specificky rhizosféry, mohla by autorka tato data případně literaturu stručně okomentovat?

V závěrech bych uvítal nějaký koncepční model, který by mohl pěkně shrnout dosavadní autorčiny poznatky o vývoji mikrobiálních společenstev na hnědouhelných výsypkách v závislosti na typu vegetace. Mohla by autorka tento koncepční model uvést na závěr své prezentace?

Další mé dotazy směřují na již vyšlé články a musím s překvapením podotknout, že ač byly články již publikovány v renomovaných zahraničních periodikách a prošly recenzním řízením, obsahují řadu formálních a obsahových chyb. Jedná se hlavně o článek 3, kde sice není autorka disertační práce prvním autorem, ale na psaní se podílela.

1. článek

- Specifičnost primerů použitých u microarray a klonování je pouze 24% a nepokrývají uniformě všechny bakteriální kmeny (testováno in-silico pomocí databáze ARB-Silva). V diskusi postrádám toto zhodnocení specifičnosti, které může výrazně ovlivnit poměry jednotlivých bakteriálních skupin a vést k mylným závěrům. Prosím autorku o stručný komentář.
- V metodice u qPCR chybí mez detekce pro obecné primery a specifické pro *Thiobacillus*. Prosím o komentář a doplnění.
- Fig. 2b mi přijde nepřehledný, prosím o autorčino vysvětlení, co z obrázku dokáže vyčíst.

2. článek

- Proč se enzymové aktivity měřily při 40°C a ne při teplotě in-situ? Jak by autorka interpretovala enz. aktivity naměřené v pufru a při 40°C oproti aktivitám naměřeným ve vodě (tj. nepufrované) při teplotě in-situ. Může způsob měření aktivit ovlivnit např. korelace s chemickým složením SOM a DOM?

3. Článek

U tohoto článku není autorka prvním autorem, proto jsou dotazy částečně mířeny i na kolegu J. Šnajdra. Malinko mi zaráží vyložené nedodělky (formální a obsahové) v článku, které bych u tak renomovaného časopisu nečekal. Vše z velké míry záleží na tom, kdo článek recenzoval a kdo byl editorem. Určitě bych ale doporučoval zaslat do časopisu opravy. Níže uvádím ty opravdu do očí bijící nedodělky.

- V metodice chybí část popisu chemických analýz. Není třeba vůbec vysvětleno, co je Cox a jak bylo stanoveno. Hodnoty Cox jsou uvedeny v Tab. 1.
- Fig. 1. Neukazuje nic jiného, než jaká spousta dat byla naměřena, ale čtenář nemá možnost se v grafech dobře orientovat. Je tam několik informací najednou: různé časy odběru, různé rostlinné dominanty a různé enzymy. To činí data podle mě velmi nepřehledná. Tento styl prezentace výsledků nepůsobí dobře. Autor by měl do vlastního článku dát data, která ukazují nějaký trend a ukázat čtenáři, zda výsledky

odpovídají položeným otázkám v úvodu článku. Právě toto data ve Fig. 1 neukazují. Do budoucna doporučuji se vyvarovat takovýmto grafům, které spíše působí jako data do "supplementary material".

- Dále u Fig. 2 není jasné, na který ze čtyř obrázků autor v textu článku odkazuje. Hodilo by se označit jednotlivé grafy např. A,B,C,D. U posledního PCA grafu navíc chybí popisky u PLFA kategorií.

Autoreferát dizertační práce považuji za dostatečný, obsahuje stručný úvod do problematiky, výsledky a shrnutí. Měl bych jen jedno doporučení. Do budoucna bych se vyvaroval vágních formulací typu: "*...v půdě byl determinován vliv dominantního druhu stromu jako faktor nejvíce vysvětlující variabilitu ve složení společenstev a mikrobiálních aktivit.*" Chybí tu konkrétní sdělení, které bakteriální skupiny reagovaly nejvíce a které aktivity má autor na mysli. A podobně vágní a neurčité formulace se objevují v celém posledním odstavci v kapitole „Shrnutí, Conclusions“. Pokud chci čtenáři nabídnout shrnutí svých nejdůležitějších poznatků, měl bych být ve vyjadřování konkrétnější, jinak musí čtenář jít zpátky do článků a hledat konkrétní výsledky a srovnání. Navíc poslední odstavec by měl obsahovat tzv. „Take home message“, tj. informaci, kam autorčina práce posunula poznání v dané problematice.

I přes výše uvedené výtky myslím, že práce Mgr. Michaely Urbanové je kvalitní a novátorská v oboru mikrobiální ekologie a doporučuji přijmout práci k obhajobě a po jejím úspěšném absolvování i udělení příslušného akademického titulu.

V Českých Budějovicích, dne 1.9.2015

Ing. Jiří Bárta, Ph.D.