

Oponentský posudek disertační práce

Barbora Pivničková: Microbial diversity of tropical wetland in relation to nutrient content

Předkládaná disertační práce se zabývá mikrobiálními procesy v mokřadních ekosystémech středoamerické Belize v závislosti na jejich eutrofizaci. Tento fenomén je v současné době rozšířen vzhledem k intenzifikaci zemědělské výroby a práce tak reflektuje aktuální problematiku antropogenního ovlivnění přirozených ekosystémů. Téma práce je proto nové a vědecky závažné a podle mého názoru práce zdařile objasňuje hlavní důsledky eutrofizace spojené se změnami vegetačního pokryvu. Práce je tvořena souborem čtyř prací, publikovaných ve vědeckých recenzovaných časopisech nebo zasláných k publikaci a je opatřena úvodem s literárním přehledem, souhrnem cílů práce a shrnutím výsledků.

Základ práce tvoří čtyři vědecké publikace, z nichž tři byly již vyšly nebo byly přijaty k publikaci v časopisech s IF s velmi dobrým renomé v oboru výzkumu. Na dvou článcích je předkladatelka první autorkou, stejně jako na rukopisu, který byl do tisku zaslán. U práce IV by mělo být specifikováno, v jakém rozsahu se na ní podílela předkladatelka.

Celkově je rozsah předkládané práce dostatečný jak po stránce rozsahu, tak vědecké kvality a svědčí o schopnosti autora samostatně provádět vědeckou práci. Kvalita anglického jazyka je však bohužel nevyrovnaná. Zatímco v článcích je na dobré úrovni, v úvodu je mnohde řada chyb – zejména nepřesného používání termínů – takže práce je místy obtížně srozumitelná. Autorka využila při práci jak metody manipulativní *in situ* experimentace, tak řadu konkrétních analytických metod. Práce integruje řadu pohledů na studovaný ekosystém a působí svým obsahem kompaktním dojmem. Je nutno konstatovat, že se podařilo nalézt odpovídající odpověď na otázky, kladené v hypotézách. Disertaci považuji za odpovídající současné úrovni oboru půdní ekologie a doporučuji udělení příslušného titulu. Dílčí komentáře, výhrady a dotazy jsou shrnuty níže.

1. V práci postrádám větší hloubku popisu výsledků, které byly ve studovaném ekosystému získány v minulosti. Naopak některé části úvodu jsou velmi povrchní.
2. Postrádám seznam zkratk, který by usnadnil orientaci v textu (některé zkratky nejsou vysvětleny – např. DNRA).
3. V textu obecného úvodu jsou roztroušeny popisy některých metod a cíle práce.
4. str. 10 v par. 4 nechápu smysl věty „The phosphorus binding capacity...“
5. str. 17, byl gradient salinity složen z více než dvou uspořádání; pokud ne, lze nazývat tento typ analýzy gradientovým?

Dotazy:

1. Co je to phytin a jak relevantní je jeho výskyt v daném ekosystému?
2. Jakou informaci o společenstvu podávají fingerprintové metody?
3. PLFA analýza je uváděna jako „community profiling“ method. Jaké jsou další použitelné metody a proč byla zvolena metoda PLFA?
4. Jak byly vzorky (str. 28) konzervovány do doby analýzy a jak se může tento způsob uložení projevit na výsledcích studie?
5. Jaké má autorka vysvětlení pro větší fixaci N v organickém horizontu půdy s porostem rostliny *Eleocharis*, zatímco v minerální půdě je fixace vyšší u porostů rodu *Typha*?

6. Jak si autorka vysvětluje větší podíl aktivních mikroorganismů v půdě s vyšším obsahem soli? Je posun poměru PLFA_{tot} / MBC spolehlivým indikátorem rozdílů v případě, že je použit u společenstev, která jsou velmi rozdílná?

V Praze, dne 27.8.2010



RNDr. Petr Baldrian, Ph.D.



Oponentský posudek na dizertační práci

Pivničková B. (2010): Microbial diversity of tropical wetlands in relation to nutrient content. 93 pp.

Úvod

Předložená dizertační práce se týká problematiky tropických mokřadů Belize, zejména změn ve struktuře a funkci mikrobiálního společenstva v důsledku zvýšeného přísunu fosforu (P). Téma práce je aktuální, jednak s ohledem na postupující eutrofizaci mokřadů a s tím spojenými požadavky na jejich management, jednak proto, že tato práce navazuje na dlouhodobý výzkum prováděný v této oblasti a přináší další poznatky do mozaiky vědomostí o tomto svérázném ekosystému.

Autorka se ve své experimentální práci zaměřila na několik aspektů, zejména strukturní analýzu mikrobiálního společenstva pomocí analýzy fosfolipidových mastných kyselin (PLFA), sledování vybraných mikrobiálních procesů (transformace C, N a P). Vlastní experimenty a část měření (nitrogenázová aktivita) byly prováděny přímo v terénních podmínkách, zbylé analýzy pak byly prováděny na pracovištích v ČR ve spolupráci s dalšími kolegy.

Formální hodnocení práce

Práce je kromě úvodního českého souhrnu napsána v angličtině, což jednak podtrhuje internacionální charakter týmu, který se podílel na odborném vedení doktorandky, jednak umožňuje okamžitý přenos zjištěných poznatků do zahraničí. Z tohoto pohledu je škoda, že celý dizertační spis nemá spíše charakter nějaké brožované publikace vytištěné ve větším počtu – jako tématicky ucelená práce by nepochybně nalezla celou řadu zájemců.

Formální pojetí práce je velmi dynamické a odpovídá současnému trendu v psaní dizertací, tedy stručný úvod do studované problematiky, výsledky vlastní práce uvedené ve formě impaktových publikací či manuskriptu a závěrečné shrnutí. Samostatné kapitoly věnované pracovním hypotézám a nástin členění práce jsou uvedeny jaksí navíc, nicméně jsou nápomocné při orientaci v textu. Jakožto rodilý mluvčí českého jazyka si netroufám hodnotit úroveň použité angličtiny, byť jsem přesvědčený, že je dokonalá. V českém souhrnu jsem naopak našel několik překlepů a nepřesných vyjádření, např. fosfolipidické mastné kyseliny...

Barbora Pivničková shrnula výsledky své experimentální práce do 4 publikací, u 3 z nich je uvedena jako první autor (což je i písemně doložené spoluautory těchto prací). Z těchto 4 publikací již byly 3 práce publikovány v časopisech s IF, 1 práce je zatím ve formě manuskriptu.

Hodnocení vlastní práce

Výsledky práce Barbory Pivničkové jsou zcela původní a přinášejí celou řadu velmi zajímavých poznatků, které rozšiřují naše vědomosti o fungování mikrobiálního společenstva v reakci na manipulativní přísuny nadměrných dávek živin i reakci na změny habitatu vyvolané změnou vegetačního krytu. Velmi oceňuji elegantní provedení terénních pokusů, ze kterých celý tým vytěžil maximum informací, navzdory nepochybným logistickým komplikacím vyplývajícím z polohy a dosažitelnosti studovaného systému. Z pohledu mikrobiální ekologie mne osobně nejvíce zaujala prokázaná změna autotrofní fixace dusíku sinicemi na fixaci heterotrofními bakteriemi. O tom, že tyto výsledky jsou kvalitní a autorka je dovede dát do kontextu s existujícími poznatky svědčí skutečnost, že v době posuzování této práce byla již většina výsledků opublikována v kvalitních zahraničních časopisech a tedy prošla náročnými recenzemi.



Výsledky práce byly průběžně prezentovány rovněž formou přednášek či posterů na celé řadě konferencí a seminářů a byly rovněž publikovány ve sbornících z těchto konferencí.

Připomínky a komentáře

- 1) Na str. 11, v poslední větě posledního odstavce autorka zmiňuje nemožnost detekce Archeí (potažmo metanogenů) metodou stanovení PLFA. Nicméně analýza etherových lipidů archeíi možná je a extrační postup je víceméně stejný jako v případě esterových lipidů (viz např. Opluštil et al. 2007, *Chem. Listy* 101: 236-240). Uvažovali jste, či dokonce zkoušeli použití nějaké jiné metody detekce archeí ?
- 2) V experimentech byl testován rovněž vliv salinity (low vs high salinity). Nicméně v publikacích jsou zmíněny pouze hodnoty konduktivity – jsou k dispozici rovněž hodnoty salinity, např. v PSU (‰)?
- 3) Nitrogenázová aktivita a podobně i analýza PLFA byly sledovány jak v sedimentech, tak na vzorcích kořenů bahničky a rákosu. Mají autoři k dispozici i nějaké další údaje o struktuře mikrobiálního společenstva, např. denzité mikrobiálních buněk ? Byly výsledky PLFA ověřovány i nějakou jinou metodou (FISH, DGGE, TRFLP) ?
- 4) Lze z výsledků odvodit, do jaké míry fixace dusíky heterotrofními diazotrofy nahradila autotrofní fixaci sinicemi ? Jinými slovy, mohou být mokřady „ohroženy“ limitací dusíkem?

Uvedené otázky a připomínky mají oponentovi pomoci se lépe zorientovat v dané problematice, v žádném případě tyto poznámky nesnižují odbornou úroveň vlastní dizertace.

Závěr:

Domnívám se, že Mgr. Barbora Pivničková plně prokázala schopnost experimentálního ověření vědecké hypotézy a konstruktivní interpretace získaných výsledků a předkládá práci, která podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb. zcela vyhovuje požadavkům kladeným na dizertační práci.

Práci proto vřele doporučuji k obhajobě

V Olomouci. 19.8. 2010

Doc. RNDr. Martin Rulík, Ph.D.

UNIVERZITA PALACKÉHO
přírodovědecká fakulta
katedra ekologie
a životního prostředí
771 46 OLOMOUC, tř. Svobody 26

Oponentský posudek

doktorské disertační práce s názvem: "Microbial diversity of tropical wetland in relation to nutrient content"

autorka: Mgr. Barbora Pivničková

oponent: Tomáš Pícek (katedra biologie ekosystémů, Přírodovědecká fakulta JU, České Budějovice)

Disertační práce Barbory Pivničkové řeší problematiku eutrofizace tropických mokřadů a jejího vlivu na diverzitu, funkci a aktivity půdního mikrobiálního společenstva. Práce působí uceleně, skládá se z obecného úvodu, tří článků, jednoho rukopisu a závěrů, z toho tři rukopisy již byly opublikovány v kvalitních zahraničních odborných časopisech s IF, u dvou z nich je autorka disertace první autorkou. Kromě významných vědeckých výsledků má práce i praktický význam, neboť se zjistilo, že s eutrofizací mokřadů úzce souvisí nárůst počtu malarických komárů ve sledovaných ekosystémech. Výsledky proto mohou přispět i k řešení tohoto problému, kdy mohou sloužit jako podkladová data pro vypracování návrhu vhodného managementu daných ekosystémů, kterým se může potlačit šíření malárie ve studované oblasti.

Pokusy a odběry vzorků byly prováděny v mokřadních ekosystémech v tropickém podnebí Střední Ameriky. Je nutno ocenit práci v tomto komplikovaném prostředí, která je náročná fyzicky i organizačně, kromě toho Barbora musela zvládnout i cestování, transport půdních vzorků, a také organizaci jejich následných analýz. Obecně je studium půdního prostředí, které je trvale zaplaveno vodou, specifické v tom, že je nutné modifikovat mnohé metody běžně používané v půdní biologii při práci s "běžnou terestrickou půdou". Některé půdně-biologické a chemické metody nejsou v takovém případě použitelné vůbec a je třeba hledat metodické přístupy nové, většinou časově i instrumentálně mnohem náročnější. I z těchto důvodů jsou výsledky získané v této předkládané práci velmi cenné.

Připomínky k předložené práci:

Název práce

- Název by mohl lépe vystihovat studovanou problematiku - v předložené disertační práci se především řešil vliv eutrofizace na různé mikrobiální aktivity v půdě mokřadního ekosystému

Úvod

- V úvodu se občas vyskytují špatně srozumitelné formulace a překlepy. Např. na str. 10, na konci podkapitoly 5: „Many studies have shown that plants contain only a small proportion of the total P that occurs in wetlands indicating that the uptake of macrophytes in wetlands is limited.“ Prosím o jeho objasnění.

Rukopis č. 1

- Není mi příliš jasné poselství rukopisu č. 1 - jeho název, cíle a závěry se mi nezdají být formulovány jasně. Jeho hlavním přínosem by asi mělo být zjištění, zda přísun fosforu do mokřadního ekosystému ovlivnil složení půdního mikrobiálního společenstva (stanovené metodou PLFA), jak vyplývá z názvu článku. Ve výsledcích a závěrech se však ještě navíc hodnotí vliv salinity na mikrobiální společenstvo, což

nevyplývá ani z názvu článku ani z definovaných cílů. Podle mého názoru by tedy bylo vhodné upřesnit a lépe formulovat zejména cíle a závěry, možná i název rukopisu a z toho by vyplývala případná změna struktury výsledků a diskuse - tzn. buď ponechat hodnocení vlivu salinity ve výsledcích nebo jej vypustit atd.

- Pro výpočet průměrných hodnot některých parametrů jsou zřejmě sloučeny dohromady sedimenty s nízkou salinitou a s vysokou salinitou (tabulky č. 3 až 5). Tyto sedimenty se ale v některých parametrech výrazně liší, jak vyplývá z dat uvedených v ostatních člancích. Ve všech třech člancích zahrnutých do disertace byly tyto sedimenty (s nízkou a vysokou salinitou) hodnoceny odděleně, nebylo by tedy vhodnější takto postupovat i v rukopise č. 1? Naopak v obrázcích s PCA analýzou výsledků PLFA analýz (obrázky č. 2,4,5) uvedených v rukopise č. 1 jsou již studijní plochy s vysokou a nízkou salinitou uvedeny odděleně. Bylo by asi vhodné sjednotit způsob vyhodnocení výsledků v celém rukopise.
- V rukopise chybí obrázek č. 3 nebo jsou obrázky špatně očíslovány.
- V tabulce č. 1 na str. 29 jsou uvedeny objemové hmotnosti sedimentu pro horní a dolní vrstvu, které se v případě ploch F10 a F12 téměř neliší. Přitom podle tabulky č.3 by horní vrstva měla obsahovat téměř dvojnásobné množství organické hmoty než vrstva dolní, navíc v horní vrstvě jsou ještě přítomny živé kořeny rostlin, proto se dá očekávat výrazně nižší objemová hmotnost u horní vrstvy ve srovnání s vrstvou dolní (jako je tomu u ploch F6 a F7). Čím se dá vysvětlit, že tomu tak není u ploch F10 a F12?
- Ve výsledcích se srovnávají parametry v horní vrstvě sedimentu s vrstvou dolní, přičemž jsou tyto aktivity přepočítány na gram sedimentu. Pokud se tyto dvě vrstvy sedimentu výrazně liší objemovou hmotností (jako je tomu u ploch F6 a F7), nebylo by vhodnější přepočítat tyto parametry na objem (např. na cm^3)? Potom by se daly spíše porovnávat tyto dvě vrstvy mezi sebou, případně přepočítat parametry ještě na plochu mokřadu.
- V metodice se uvádějí dvě metody stanovení obsahu organické hmoty v půdě: 1) "ztráta žíháním" (loss on ignition) a 2) analýza celkového obsahu organického uhlíku pomocí elementárního analyzátoru. Pokud byly použity pro všechny vzorky obě metody, potom by bylo vhodnější uvádět pouze výsledky elementární analýzy jako obsah celkového organického uhlíku, neboť je tato metoda přesnější než metoda "ztráty žíháním".

Článek č. 3 a závěry celé disertace

- Z výsledků uvedených v článku č. 3 vyplývá, že dodání fosforu do studovaných ekosystémů způsobilo nárůst heterotrofních mikrobiálních aktivit (viz závěry, str. 91). To se týkalo mineralizace dusíku, denitrifikační enzymatické aktivity, nitrogenázové aktivity a metanogeneze, avšak ke statisticky průkaznému nárůstu rychlosti aerobní a anaerobní respirace nedošlo. Čím by se dal tento jev vysvětlit?

Přes výše uvedené připomínky má práce jako celek vysokou kvalitu a velmi rád ji **doporučuji k obhajobě.**



V Českých Budějovicích, dne 30.8.2010

Tomáš Pícek