



Review of the PhD thesis entitled
„Carbon allocation strategies in algae exposed to stressful conditions”
submitted by Martin Lukeš
(Supervisors: Prof. RNDr. Ondřej Prášil, PhD)

The thesis deals with the adaptation of various microalgae to different conditions. In particular, the thesis reveals the effect of temperature, light conditions and salinity on the membrane composition mainly focusing on the changes in the fatty acid desaturation.

The subjects of the thesis are of great interest in the field of photosynthesis and biotechnology. The thesis is based on 3 articles, all with first authorship of the Candidate. Since the results are published in peer reviewed journals they must be important and up to date. The articles summarised in the “Overview of my research” chapter of the thesis and the full articles are attached after the chapter References. The first chapter of the thesis is a detailed introduction that gives an overview about the concerned themes, providing background for the 4th chapter entitled “Overview of my research” indicating the Candidate has appropriate knowledge in the field. The second chapter is about the aims of the thesis. The 3rd chapter introduces the model organisms and the applied methods. The 4th chapter summarizes the articles that gave the bases of the thesis, highlighting the main findings. The 5th chapter “Conclusions and future prospects” also emphasizes and discusses the main results. The applied biochemical and biophysical methods are adequate and up-to-date. The candidate cited 270 references in this thesis proving his scientific knowledge about his topic. He discussed his results in the aspects of state-of-the-arts. However, in few cases more recent publications are missing. The quality of English and the general presentation are good.

In the following, I give my list of critical remarks and questions.

There are only few small mistakes in the text e.g. page 5: P700, β -carotene – P700 and β -carotene; page 7: Therefore – Therefore, ; page 8: CO₂ – CO₂; page 14: observed by in – observed in; NO₃⁻ - NO₃⁻; page 16: D4, D5, D6 and D8 FAD - Δ 4, Δ 5, Δ 6 and Δ 8 FAD; page 19: Synechocystis –



Synechocystis; page 25: I – It; page 37: high light conditions – high-light conditions; page 43: PUFA's – PUFAs.

A list of abbreviation (including strain's names) should be included since the thesis is full of abbreviations. In several cases the abbreviations were not introduced, e.g.: page 10: PUFA, PFD; page 37: PG; page 42: CLH, MGDG, DGDG, SQDG; page 40: DBI and the full strain names are missing.

Chapter 1.1.: It would be better to rephrase the following sentence: "Upon stress recognition, the homeostasis is being maintained by the de-novo synthesis of fatty acids, fatty acid unsaturation (addition of one or more double bonds to the carbon backbone of fatty acids) and/or elongation (addition of more carbons to the fatty acid chain) and finally utilization of storage of lipids." Also I would use desaturation instead of unsaturation in these sentence.

Chapter 1.2.1: In some cases the references are missing according to the given organisms on figure 2. Only one organism marked by red so in the text should be written organism instead of organisms.

Chapter 1.2.1.1: This chapter should be a little bit more detailed. Some part is superficial and the other is too specific therefore it is not so coherent. It should not be stated that the photosynthetic machinery consists of two integral thylakoid membrane protein complexes. If noncyclic electron transport is mentioned, then what is about the cyclic one?

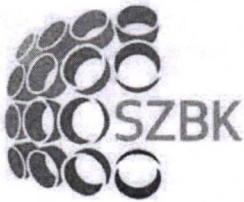
Chapter 1.2.1.3: It would be better to rephrase the sentence starting as: "Works of Das et al (2011) and..."

Chapter 1.2.2.1: It would be better to explain what covers the transient energy stress in the last sentence of the chapter.

Chapter 1.2.2.2: The part related to the article An et al. need to be rephrased including with more details.

The statement that monounsaturated FAs are more effective than PUFAs in decreasing membrane order were not fully supported by the represented findings.

Chapter 1.2.2.3: The part about the heat shock protein seems to be unnecessarily detailed since direct connection to the research of the Candidate is not presented in the thesis, although it related to the subject of the presented work.



Chapter 1.2.3: The origin of the organisms is color coded on the figure 5, but the red color depicts the organism used in the study and like this we do not get information about the origin of that organism on the figure.

Chapter 1.2.3.2: The part “Tasaka et al. (1996) using site-directed mutagenesis...di-unsaturated fatty acids (Sakamoto et al. 1994).” is obscure.

Chapter 2: “Algae are constantly subjected to stressful environmental conditions, the question is: to what extent?” this wording suggests like this is the main question of the research.

I think “Specifically, the research was based on:” is not a good introduction to expound the aims.

Chapter 3.1: It is a good idea to introduce the model organisms in this chapter.

Chapter 3.2: The “Electron transfer at the acceptor side of PSII” refers to the first article for more detail, but actually it was missing, therefore, it should have been detailed in the thesis.

Chapter 4 should have been represented in more detail with incorporation of some figures or tables summarising the results, that would have helped reading this and emphasizing the results.

Chapter 5: I suggest to use “As shown in Article II” instead of “As shown in (II)”.

The sentence “The blue light enhanced activity of nitrate reductase can be the mechanism....” gives the impression that they measured the nitrate reductase activity and I also suggest that it would be better to rephrase the rest of the sentence.

Page 43: Not clear from the wording what kind of temperature led to increase of PUFAs.

Additional questions:

Beside the lipid composition as it suggested in the thesis how, and what other membrane components could influence the membrane rigidity and adaptation to changing temperatures?

Low blue-light treated *Chromera velia* cells were smaller although their specific growth rate was similar to the cells grown under other light quality, do we have information about the specific dry weight of cells? (I assume it lower.) How could the protein rate be higher over the lipid and carbohydrate content in the smaller cells, since the ratio of the cell wall and lipid components to protein should be necessarily higher in smaller cells because of the specific surface – volume ratio? The smaller volume has higher surface.

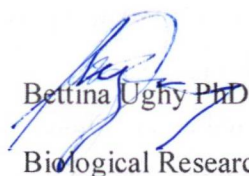


Biological Research Centre
Centre of Excellence of the European Union

Bettina UGHY PhD
H-6726 Szeged, Temesvári krt. 62.
6701 Szeged, Pf. 521.
Hungary
Tel.: 62 599 706
Fax: 62 433 434
Email: ughy.bettina@brc.hu

On the basis of the presented results, that published in international journals of good standards, I suggest to the Doctoral Committee the admission of the dissertation to public defence and in the case of successful defence awarding of the PhD degree to Martin Lukeš.

Szeged, 13.02.2020


Bettina Ughy PhD
Biological Research Centre

H-6726 Szeged, Temesvari krt. 62.

Hungary

Posudek na dizertační práci Mgr. Martina Lukeše „Carbon allocation strategies in algae exposed to stressful conditions“

Předložená disertační práce pojednává o změnách v alokaci uhlíku, zejména lipidů, u řas, které byly exponovány stresovým podmínkám jako jsou vysoká intenzita světla, vysoká a nízká teplota a vysoká salinita. Práce je postavena na třech publikacích v časopisech s relativně nízkým impaktním faktorem: FEMS Microbiology Ecology, Journal of Applied Phycology a Folia Microbiologica. U všech publikací je Mgr. Lukeš hlavním autorem.

V úvodní části práce (26 stran) autor pojednává obecně o vlivu faktorů prostředí – světlo, teplota a salinita – na vybrané fyziologické procesy u řas a dalších organismů. Tato část práce je přehledem problematiky, která je řešena v rámci přiložených publikací. Prezentované publikace jsou, co se týká naměření, dosti heterogenní, bylo tedy poměrně obtížné nalézt společného jmenovatele pro úvod práce. Jak je uvedeno v názvu dizertace i její předmluvě, společným jmenovatelem měla být problematika „carbon allocation“. Problematika „carbon allocation in algae“ však podle mne není v práci pojata dostatečně komplexně, ačkoliv název práce toto implikuje. Na druhou stranu se však autorovi podařilo napsat poměrně zdařilý přehled problematiky vztahující se k přiloženým publikacím, kde je akcentován zejména vliv stresových faktorů na složení a stav membránových lipidů. Některé podkapitoly (zejména kap. 1.2.2.1 Temperature effects on photosynthesis a kapitola 1.2.3.1. Salinity effect on photosynthesis) jsou však jen souborem prezentovaných faktů bez náležitého shrnutí a zařazení do širšího kontextu.

Za úvodní částí následuje kapitola Aims and hypotheses (2 strany), kde je stručně uvedena motivace k řešeným projektům a pracovní hypotézy. Hypotézy jsou však natolik obecné, že jejich potvrzení je zřejmé/triviální. Hypotézy mají vycházet z přehledu problematiky a mají řešit nějaký problém či nejasnost nebo rozvíjet poznání nějakým zdůvodněným směrem.

V další kapitole Model organisms and methods (8 stran) jsou popsány organismy, se kterými byly prováděny experimenty, a stručný přehled použitých metod s odkazy na přiložené publikace.

Přehled výsledků je prezentován v části Overview of my research (8 stran), kde autor shrnuje výsledky prezentované ve třech přiložených publikacích se závěrečným shrnutím. Zaujal mne výsledek první publikace (Paper I), kde bylo zjištěno, že přenos elektronu z Q_A na Q_B je cca 2x rychlejší u sněžné řasy *Chlamydomonas cf. nivalis* než u modelové zelené řasy *Chlamydomonas reinhardtii*. Autoři dávají toto zjištění do souvislosti se změnou ve struktuře D1 proteinu PSII a v zastoupení PG v thylakoidních membránách u sněžné řasy. Je otázkou, zdali je tato interpretace správná, protože změna ve struktuře D1 se může projevit ve změně pravděpodobnosti dějů v PSII (např. vyšší pravděpodobnost rekombinace, cyklický elektronový transport v PSII), které mohou zkreslit měření přenosu elektronu z Q_A na Q_B pomocí „single turnover“ záblesku. Byl dále zkoumán mechanismus rychlejšího přenosu z Q_A na Q_B u sněžné řasy?

V publikaci III bylo u *Chromera velia* zjištěno, že modré světlo zvyšuje účinnost fixace dusíku současně se snížením účinnosti fixace CO_2 . Jaký by mohl být mechanismus, vysvětlující toto chování?

Obecně je disertační práce je napsána velmi dobrou srozumitelnou angličtinou a obsahuje jen minimum formálních nedostatků. Text je na jednu stranu čtivý, ale na druhou stranu málo strukturovaný. Autor vůbec nepoužívá členění textu do odstavců!

Na závěr poznamenávám, že výsledky dizertační práce považuji za významné, postrádal jsem však jejich širší diskusi. Přes výše uvedené připomínky práci **doporučuji k obhajobě**.

prof. RNDr. Petr Ilík, Ph.D.

V Olomouci dne 17.2.2020

