

## Posudek oponenta habilitační práce

### Masarykova univerzita

**Fakulta** Přírodovědecká fakulta MU  
**Habilitační obor** Mikrobiologie

**Uchazeč** Ing. Martin Krsek, CSc.  
**Pracoviště** PřF MU  
**Habilitační práce** Metody studia diverzity půdních mikrobiálních společenstev

**Oponent** RNDr. Petr Baldrian, Ph.D.  
**Pracoviště** Mikrobiologický úvod AV ČR, v. v. i.

### Text posudku (rozsah dle zvážení oponenta)

Předložená habilitační práce je založena na souboru deseti publikací autora, z nichž deset je v časopisech s IF a jedna je referátem z konference. Publikace v IF časopisech jsou vesměs v časopisech s dobrým ohlasem a tři z nich byly publikovány v prestižních časopisech Science (1x) a Applied and Environmental Microbiology (2x). Autor habilitační práce je prvním autorem článků publikovaných v Antonie van Leeuwenhoek (2x), Applied Soil Ecology (1x) a výše zmíněného konferenčního příspěvku. Články, zahrnuté do habilitace dokládají jednoznačně dostatečnou kvalifikaci autora pro samostatnou vědeckou práci, nicméně uvítal bych konkrétnější informaci o podílu autora na vzniku jednotlivých článků, zejména těch, kde není uveden jako první autor. V práci je bohužel obsažen pouze odstavec o přínosu práce skupiny, ve které autor působil, o vlastním přínosu informace neuvádí. Na habilitační práci je poněkud nezvyklé její téma, týkající se metod molekulární biologie. Ty jsou často brány pouze jako prostředek vědecké práce a nikoli její cíl a jejich vývoj je samozřejmou součástí práce všech vědeckých pracovníků. Vzhledem k tematickému zaměření některých uvedených prací na metodiku a k faktu, že i v dalších, experimentálně zaměřených pracech, je vývoj metodik jejich důležitou součástí, je možné toto zaměření práce bez problémů přijmout.

Velmi zdařilou součástí práce je podrobný úvodní text popisující jednotlivé molekulární metody analýzy mikrobiálního společenstva, i když je místy nevyrovnaný – například metodám extrakce DNA z půdy je věnována velká pozornost, zatímco využití mikroarrayů a kvantitativní PCR je zmíněno pouze velmi krátce, přestože obě metody jsou používány v analogickém rozsahu jako řada jiných, kterým je věnována velká pozornost. Práci podle mého názoru schází zhodnocení přínosu jednotlivých popisovaných metod s metodami, využívajícími next-generation-sequencing, které jsou v posledních letech v oboru standardem a řadu starších (zde uvedených) metod prakticky vytlačily na okraj zájmu. I tak ale práce zůstává velmi kvalitní jak svým obsahem, tak výběrem zahrnutých publikací a lze ji jednoznačně doporučit k obhajobě.

Níže uvádím další, specifitější komentáře k jednotlivým částem práce:

Str. 9 – viry nelze označit jako „organizmy“

Str. 10 dole – informace, že údaje o rozšíření a roli Archaeí v půdě jsou omezené již je dnes poněkud zstaralá

Str. 11, odst. 2 – údaje o počtu bakteriálních druhů v půdě jsou zastaralé, nevycházejí z nejnovějších prací, založených na metodách next-generation-sequencing (první takové práce

vyšly již v roce 2008!)

Str. 10, odst. 3 a dále – údaje jsou značně zastaralé a neodrážejí realitu, zjištěnou moderními metodami

Str. 13, odst. 3 – současný systém hub je jiný: Zygomycota neexistují, Oomycota se mezi houby neřadí

Str. 17 – měla by být zmíněna metoda PLEL – analogie analýzy PLFA u Archaeí

Str. 20-32 – v příliš podrobném textu není patrné hodnocení účinnosti jednotlivých metod

Str. 33-35 – není jasné, co je míněno „absolutní diverzitou mikrobiálního společenstva“ a jak je k jejímu stanovení možno využít reasociaci DNA

Str. 36-38 – postrádám popis významu metagenomických knihoven na pozadí v současnosti metodicky snadné analýzy DNA shotgun sekvenací

Str. 38 – není pravda, že gen 16S rRNA je u všech živých organismů (není u eukaryot)

Str. 39 – je uvedena RDP jako knihovna pro analýzu 16S rRNA, ale obdobných knihoven je řada, např. Silva, Greengenes, ad.

Str. 44 – v kapitole o PCR by mohla být zmíněna možnost využití alternativních taxonomických markerů k 16S rRNA, včetně tzv. single-copy-genů. U fingerprintových metod by bylo vhodné srovnat jejich účinnost se současnými odhady diverzity (desítky tisíc druhů bakterií v gramu půdy) a s účinností NGS metod

Str. 56-57 – u qPCR by mohla být krátká diskuse o možnosti designu specifických primerů, není uvedeno k čemu je qPCR vhodná a jaké jsou její limitace, rozdíly mezi dvěma hlavními technologiemi, ad.

Str. 59 – postesek nad různými finančními možnostmi pracovišť podle mě do habilitace nepatří, naopak, bylo by možné říci, že svojí cenou je dnes molekulární biologie velmi „demokratická“ což se odráží v řadě prací autorů se zemí s limitovanými rozpočtem na vědu

### **Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce (počet dotazů dle zvážení oponenta)**

**1. Jaký byl konkrétní přínos autora k jednotlivým pracem, zahrnutým v disertaci, u nichž není prvním autorem?**

**2. Jak by autor srovnal současnou využitelnost fingerprintových metod, metod založených na mikroarrayích a metod využívajících next generation sequencing pro analýzu složení mikrobiálních společenstev?**

### **Závěr**

Habilitační práce Martina Krska „Metody studia diverzity půdních mikrobiálních společenstev“ *splňuje* požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Mikrobiologie.

datum, 21.8.2014