

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Charles University in Prague
Faculty of Science

Doktorský studijní program: Mikrobiologie
Ph.D. study program: Microbiology



Autoreferát disertační práce

Summary of the Ph.D. Thesis

Ekologie kvasinek v lesních půdách
Ecology of yeasts in forest soils

Tereza Mašínová

Školitel/Supervisor: Doc. RNDr. Petr Baldrian, PhD.

Prague, 2017

Doktorské studijní programy v biomedicině

*Univerzita Karlova v Praze
a Akademie věd České republiky*

Program: Mikrobiologie

Předseda oborové rady: doc. RNDr. Ivo Konopásek, CSc.

Školící pracoviště: Laboratoř environmentální mikrobiologie, Mikrobiologický ústav Akademie věd České republiky

Autor: Tereza Mašínová

Školitel: doc. RNDr. Petr Baldrian, PhD.

S disertací je možno se seznámit v příslušných knihovnách Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Obsah/Content

Abstrakt.....	4
Abstract.....	5
Úvod.....	6
Distribuce kvasinek v půdním horizontu	7
Význam kvasinek v půdě a opadu.....	8
Vliv biotických a abiotických podmínek prostředí na kvasinková společenstva.....	9
Cíle práce	9
Materiály a metody	10
Výsledky a diskuze	11
Diverzita a složení kvasinkových společenstev v půdě a opadu temperátních lesů.....	11
Biotická a abiotické faktory ovlivňující složení kvasinkových společenstev	13
Role kvasinek v rozkladu organické hmoty a využití zdrojů uhlíku kvasinkami	14
Rozdíly mezi kvasinkami a vláknitými houbami	15
Závěry	16
Introduction.....	18
Distribution of yeasts in forest topsoil	19
Importance of yeasts in soil and litter	20
Effect of biotic and abiotic conditions on yeast communities	21
Aims of the study	21
Materials and Methods.....	22
Results and Discussion	23
Diversity and community composition of yeasts in temperate forest soil and litter	23
Biotic and abiotic drivers of yeast community composition.....	25
Decomposition potential and the utilization of carbon sources by yeasts.....	26
Difference between yeasts and filamentous fungi.....	27
Conclusions.....	28
Použitá literatura - References.....	30
Publikace, které jsou podkladem dizertace	34
Curriculum Vitae: Tereza Mašínová	35

Abstrakt

Společenstva mikroorganismů ve svrchních horizontech půdy představují významnou složku lesních ekosystémů. Navzdory tomu, že kvasinky jsou nedílnou součástí společenstev půdních hub, jejich roli v lesních ekosystémech dosud nebyla věnována dostatečná pozornost. Cílem této dizertační práce bylo popsat složení společenstva kvasinek v půdě a opadu temperátního lesa pomocí sekvenace environmentální DNA, identifikovat dominantní druhy kvasinek a popsat, jak složení jejich společenstva odráží biotické a abiotické podmínky prostředí. Dalším cílem bylo izolovat kvasinky z lesní půdy a opadu a popsat nové druhy, které jsou významně zastoupené v environmentální DNA. Reprezentativní izoláty byly charakterizovány z hlediska jejich schopnosti využívat organické látky a podílet se na rozkladu mrtvé organické hmoty.

Výsledky této práce ukázaly, že kvasinky představují podstatnou část společenstev hub v půdě a opadu temperátního lesa s vyšším relativním zastoupením v půdě. V opadu se společenstva kvasinek liší mezi porosty buku, dubu a smrku. Faktory, ovlivňující složení společenstva v půdě, jsou pravděpodobně složitější a zahrnují vliv abiotických podmínek a vegetace. Přestože faktory prostředí ovlivňují společenstva kvasinek a vláknitých hub podobně, existuje mezi nimi rovněž mnoho rozdílů. Navzdory taxonomické heterogenitě představují kvasinky houbovou skupinu se specifickou nutriční strategií odlišnou od jiných půdních hub. Zatímco účinný rozklad hemicelulózy, celulózy nebo chitinu se zdá být omezen pouze na několik taxonů, schopnost využívat široké spektrum zdrojů uhlíku naznačuje, že kvasinky mohou působit jako mutualisté, využívající produkty rozkladu, poskytované jinými mikroorganismy. Za pozornost stojí, že velká část enzymové aktivity je u kvasinek vázána na povrch buněk. Tato adaptace pravděpodobně slouží k snadnějšímu příjmu produktů rozkladu do buněk kvasinek, které enzymy produkují. Na základě výsledků této práce lze konstatovat, že kvasinky v lesních ekosystémech obsazují unikátní niku, která pravděpodobně odráží jejich jednobuněčnou růstovou formu. Byly popsány tři nové druhy kvasinek, které patří do podkmene Pucciniomycotina, třídy Microbotryomycetes: *Leucosporidium krtinense* f.a. sp. nov., *Yurkovia mendeliana* sp. nov. a *Libkindia masarykiana* sp. nov. Analýza environmentální DNA naznačuje, že tyto druhy jsou ve studovaném prostředí hojné, a tedy pravděpodobně významné pro půdu temperátního lesa.

Abstract

Microbial communities inhabiting upper soil horizons represent an important component of forest ecosystems. However, despite the evidence that yeasts represent an integral part of topsoil fungal communities, their role in forest ecosystems received so far little attention. The aims of my PhD thesis were to describe yeast communities in soil and litter of a temperate forest using high-throughput sequencing of environmental DNA, identify dominant yeast species and to explore how the composition of yeast communities reflects the biotic and abiotic factors of the environment. I also aimed to isolate yeasts from forest topsoil, describe novel yeast taxa abundant according to the environmental DNA survey and screen representative isolates for the traits relevant to their involvement in organic matter transformation.

I have demonstrated that in forest topsoil, yeasts represent a substantial proportion of fungal communities with higher relative abundance in soil than in litter. In litter, yeast communities differ significantly among beech, oak and spruce-dominated stands. Drivers of community assembly are probably more complex in soils and comprise the effects of soil chemistry and vegetation. Even though there are similarities in the response of the communities of yeasts and filamentous fungi to environmental conditions, many differences are also evident. Despite taxonomic heterogeneity, yeasts represent a fungal group with a specific nutritional strategy dissimilar to other soil fungi. While the efficient decomposition of hemicellulose, cellulose or chitin appears to be restricted to only a few taxa, results of the carbon sources utilization assays indicate that most yeasts can efficiently act as mutualists that utilize products of decomposition, provided by other microbes. Importantly, large fraction of enzymes produced by yeasts is associated with their cell surfaces. This adaptation should ensure that the decomposition takes place at the cell surface of the unicellular microorganisms and the resulting compounds are readily available to the producers of the enzymes. Based on the results of this thesis, forest soil yeasts seem to have unique ecology which may reflect their unicellular growth form. Three novel yeast species were described, all belonging to the subphylum Pucciniomycotina, class Microbotryomycetes: *Leucosporidium krtinense* f.a. sp. nov., *Yurkovia mendeliana* sp. nov., and *Libkindia masarykiana* sp. nov. Based on the analysis of environmental DNA, these new species are common and abundant in the studied environment which indicates their high environmental relevance in the temperate mixed forest.

Úvod

Lesy patří k dominantním terestrickým ekosystémům, které pokrývají více než 40 milionů km² a představují 30% souše (Keenan et al., 2015). Důležitou součástí těchto ekosystémů jsou společenstva mikroorganismů, která obývají lesní půdu a opad. Tato společenstva jsou složitými konsorciemi prokaryotických a eukaryotických organismů (archeí, bakterií, řas, protist a hub) a jsou zodpovědná za řadu biochemických procesů, které v lesních ekosystémech probíhají. Podílejí se například na dekompozici, působí jako rostlinní symbionti či patogeni a ovlivňují cyklus uhlíku a tím i dostupnost živin v prostředí (Trivedi et al. 2013; Uroz et al., 2016; Baldrian, 2017). Pochopení role mikroorganismů v těchto procesech je tedy nezbytné pro pochopení fungování lesních ekosystémů. K nejprostudovanějším mikroorganismům v půdě a opadu temperátního lesa patří houby, které se vyskytují v různých růstových formách a vykazují široké spektrum trofických strategií, jako je například saprotrofie, tedy schopnost získávat organické sloučeniny z mrtvé organické hmoty, parazitismus, nebo různé druhy symbióz.

Saprotrofní houby jsou kvůli schopnosti produkovat řadu extracelulárních lignocelulolytických enzymů a schopnosti snadno kolonizovat nové substráty považovány za nejefektivnější rozkladače mrtvé organické hmoty v lesním ekosystému. Tyto houby se mohou vyskytovat ve dvou růstových formách (bez ohledu na jejich taxonomickou příslušnost) - jako vláknité organismy nebo jako kvasinky, pro které je typický výskyt v jednobuněčné formě. Kvasinky jsou polyfyletická skupina, která zahrnuje jak zástupce oddělení Ascomycota, tak Basidiomycota. Jednobuněčná růstová forma pravděpodobně vznikla jako adaptace usnadňující život v tekutých nebo polotekutých substrátech s vysokou koncentrací snadno dostupných živin (Starmer and Lachance, 2011). Většina kvasinek, včetně těch, které rostou jako jednobuněčné organismy během většiny svého životního cyklu, je schopna přejít na vláknitý růst v reakci na měnící se podmínky prostředí. Přestože mnoho druhů kvasinek tvoří pravé hyfy, některé z nich tvoří pouze pseudohyfy, prodloužené válcové struktury, které jsou podobné prodlouženým kvasinkovým buňkám. Většina kvasinek tedy není v tradičním slova smyslu jednobuněčná.

Převládající růstová forma houbového organismu (vláknitá nebo kvasinková) ovlivňuje jeho realizovanou niku. Předpokládáme, že hyfy umožňují vláknitým houbám překonávat místa s nepříznivými podmínkami při hledání heterogenně rozložených zdrojů (de Boer et al., 2005). Kvasinky se musí spoléhat na lokální zdroje, a proto jsou ovlivněny bezprostředními vlastnostmi

půdy či opadu. Možnosti šíření těchto dvou růstových forem mohou být také odlišné. Předpokládá se, že kvasinky mohou být snadno přenášeny proudy vzduchu a vody, zatímco hyfové řetězce vázané k substrátu mají nižší pravděpodobnost šíření.

Distribuce kvasinek v půdním horizontu

V opadu se obvykle vyskytují početná a druhově bohatá společenstva kvasinek s vysokým podílem druhů, které byly do tohoto prostředí přeneseny z fylosféry, která obsahuje velké kvasinkové populace specifické pro jednotlivé druhy stromů (Yurkov et al., 2008). Společenstva kvasinek v půdě se zdají být méně početná a různorodá (Yurkov et al., 2012a). Počet kvasinek, které se vyskytují většinou v horních 10 cm půdy, se obvykle pohybuje mezi stovkami a tisíci v gramu (Botha, 2006, 2011), avšak relativní podíl kvasinkových sekvencí ve srovnání se sekvencemi vláknitých hub se zdá být vyšší v půdě (Urbanová et al., 2015).

Doposud bylo popsáno přibližně 130 druhů kvasinek, které obývají půdu jako svoje primární prostředí (Yurkov et al., 2011). Mezi adaptace, které jim umožňují přežít, patří například schopnost růstu v prostředí s nízkými koncentracemi živin (Kimura et al., 1998; Botha, 2006). Byly také zjištěny aktivní mechanismy, které kvasinky používají ke snížení kompetice s jinými druhy. Mezi tyto mechanismy patří například killer aktivita, okyselování prostředí či produkce etanolu (např. Golubev, 2006; Starmer a Lachance, 2011).

Kultivační studie ukázaly, že většina kvasinek vyskytujících se v půdě a opadu patří do oddělení Basidiomycota (např. Golubev, 2006; Mestre et al., 2011; Starmer and Lachance, 2011; Yurkov et al., 2012a; Yurkov et al., 2012b). Bylo zjištěno, že kvasinky z oddělení Basidiomycota dokáží rozkládat rostlinný opad a dřevo efektivněji než kvasinky z oddělení Ascomycota (Fonseca, 1992; Sampaio, 1999; Botha, 2006; Middelhoven, 2006). Ačkoli existují některé výjimky, většina studovaných kvasinek z oddělení Ascomycota účinně využívá jednoduché cukry, zatímco jejich schopnost rozkládat komplexní polysacharidy je spíše nízká nebo zcela chybí (Fonseca, 1992; Sampaio, 1999; Botha, 2006; Middelhoven, 2006), a proto jsou tyto kvasinky často považovány za primární obyvatele čerstvého opadu nebo rhizosféry (např. Middelhoven, 2006; Mestre et al., 2011). Kvasinky z oddělení Basidiomycota se naopak častěji vyskytují v živinami chudé okolní půdě, která není v přímém styku s rostlinnými kořeny. Kromě metabolických

adaptací mají kvasinky v okolní půdě tendenci agregovat a vytvářet biofilmy obklopené polysacharidovými kapsulemi.

Význam kvasinek v půdě a opadu

Houby jsou považovány za primární rozkladače organických látek v lesní půdě a opadu, a proto existuje mnoho studií, které se zabývají rozkladem organické hmoty a využitím uhlíku různými skupinami vláknitých hub (např. Martinez et al., 2005; Baldrian et al., 2011; Eichlerová et al. 2015), kvasinky ovšem zůstávají opomíjenou skupinou. Kvasinky byly opakovaně izolovány z rozkládajícího se rostlinného materiálu, což naznačuje, že by mohly být zapojeny do rozkladu mrtvé organické hmoty, nicméně tyto studie byly zaměřeny hlavně na popis nových druhů kvasinek (např. Péter et al., 2003; Middelhoven, 2006; Middelhoven a Kurtzman, 2007; Kurtzman et al., 2011). Naše znalosti o významu kvasinek v rozkladných procesech jsou tedy omezeny na několik studií (např. Sampaio, 1999, Middelhoven, 2006, Yurkov et al, 2012b). Počáteční fáze rozkladu čerstvého odpadu začíná rychlým vyčerpáváním jednoduchých cukrů rychle rostoucími a často fermentujícími kvasinkami, jelikož v této fázi není velká konkurence a kvasinky se opadu dostanou s čerstvě spadlým listím z filosoféry. Během rozkladu opadu jsou tyto druhy nahrazeny jinými kvasinkami (často zástupci odelení Basidiomycota), které mohou využívat širší spektrum zdrojů uhlíku (např. Margesin et al. 2005, DeRito a Madsen, 2009). Studie využívající sekvenace environmentální DNA, které se zaměřily na sukcesi houbových společenstev během rozkladu, ukázaly, že četnost některých operačních taxonomických jednotek (OTU) identifikovaných jako kvasinky, se časem rychle zvyšuje, což také naznačuje jejich zapojení do tohoto procesu (např. Buée et al., 2009; Voříšková a Baldrian, 2013; Voříšková et al., 2014).

Důležitá funkce kvasinek v lesním ekosystému vyplývá z jejich schopnost růstu na kamenitých površích (Sterflinger a Prillinger, 2001; Burford et al., 2003), kde přispívají ke zvětrávání, čímž přispívají cyklu fosforu a síry v půdě. Mají také schopnost rozpouštět fosforečnany obsažené v minerálech a zpřístupňovat je rostlinám (Burford et al., 2003; Botha, 2006, 2011). Kvasinky hrají kvůli schopnosti produkovat polysacharidové kapsule důležitou roli při tvorbě půdních agregátů (Vishniac, 1995; Botha, 2006, 2011). Kvasinky také interagují s jinými organismy v půdě a opadu. Bylo pozorováno mnoho různých typů interakcí s živočichy, jako je mutualismus nebo antagonistické interakce, ale většina z nich byla studována hlavně *in vitro*. Kvasinky

mohou také sloužit jako zdroj potravy pro půdní bakterie, bezobratlé a protista (Botha, 2006; Yurkov et al., 2008; Botha, 2011). Rostoucí počet studií naznačuje, že růst rostlin může být přímo nebo nepřímo podporován kvasinkami v rhizosféře (Medina et al., 2004; Nassar et al., 2005; Cloete et al., 2010).

Vliv biotických a abiotických podmínek prostředí na kvasinková společenstva

Kultivační studie ukázaly, že společenstvo kvasinek na jedné lokalitě je obvykle tvořeno pouze několika druhy (společenstva vykazují nízkou α -diverzitu; Yurkov et al., 2011). Variabilita složení společenstva ve větším měřítku (β -diverzita) je obvykle velmi vysoká (např. Slavikova a Vadkertiova, 2000; Vishniac, 2006; Starmer a Lachance, 2011; Yurkov et al., 2012b). Distribuce kvasinek v půdě je často fragmentovaná s pouze několik druhů bývá sdíleno mezi odběrovými místy. Předpokládáme, že kvasinky nejsou limitovány schopností šíření (Fonseca a Inácio, 2006; Starmer a Lachance, 2011; Francesca et al., 2014) a proto je pravděpodobné, že jsou ovlivněna environmentálními podmínkami i ve větším měřítku, ne jen na úrovni lokálních vlastností půdy. Bylo zjištěno, že početnost kvasinek a složení jejich společenstva ovlivňují abiotické podmínky, jako je pH, vlhkost, teplota a dostupnost živin. Složení společenstva kvasinek také ovlivňují biotické podmínky, zejména pak vliv dominantních stromů (např. Wuczkowski a Prillinger, 2004; Yurkov et al., 2004; Yurkov et al., 2011; Mestre et al., 2014). Všechny naše poznatky o vlivu biotických a abiotických faktorů nicméně pochází z kultivačních experimentů a tyto závěry je tedy nutné ověřit sekvenací environmentální DNA.

Cíle práce

Navzdory tomu, že kvasinky tvoří nedílnou součást půdních společenstev hub, jejich roli v lesních ekosystémech dosud nebyla věnována dostatečná pozornost. Vzhledem k odlišené životní strategii kvasinek a vláknitých hub můžeme očekávat, že jejich společenstva budou ovlivněna jinými faktory. Naše současné poznatky o společenstvech kvasinek v lesní půdě a opadu jsou založeny především na kultivačních experimentech, které ovšem mohou poskytnout zkreslené závěry. Přestože existuje celá řada studií zabývajících se studem společenstev hub pomocí

sekvenace environmentální DNA, tento přístup ještě nebyl použit pro analýzu specificky zaměřenou na kvasinková společenstva v lesních půdách a opadu.

Cílem této práce bylo rozšíření současných poznatků o diverzitě a ekologické roli kvasinek v opadu a půdě temperátních lesů. K dosažení tohoto cíle jsem využila kombinace sekvenování environmentální DNA a kultivačních technik s následnou fyziologickou charakterizací vybraných izolátů.

Cíle mé dizertační práce byly:

1. Popsat společenstvo kvasinek v půdě a opadu temperátního lesa pomocí sekvenování environmentální DNA, identifikovat dominantní druhy kvasinek a prozkoumat, jak se jejich společenstvo mění v závislosti na abiotických a biotických faktorech prostředí (Článek I).
2. Srovnat vliv dominantní vegetace a abiotických podmínek na složení společenstva kvasinek a vláknitých hub pomocí sekvenování environmentální DNA (Článek II).
3. Izolovat kvasinky z lesní půdy a opadu a popsat nové druhy, které jsou dominantní mezi environmentálními DNA sekvencemi (Článek III).
4. Charakterizovat reprezentativní kvasinkové izoláty z hlediska jejich schopnosti podílet se na rozkladu mrtvé organické hmoty a využívat vybrané zdroje uhlíku a porovnat vlastnosti kvasinek s jinými skupinami vláknitých saprotrofních hub (Článek IV).

Pro zodpovězení těchto otázek byly prováděny terénní experimenty v oblasti Školního lesního podniku Masarykova lesa Křtiny patřícímu Mendelově univerzitě v Brně (ŠLP Křtiny). Vzhledem k variabilním podmínkám prostředí a složení porostů je tato oblast vhodná pro charakterizaci houbových společenstev v temperátních lesích.

Materiály a metody

Analýza diverzity a statistické analýzy (Článek I, II, III, IV)

Bioinformatická analýza ampliconových sekvenačních dat (Článek I, II, III, IV)

Enzymatické testy (Článek III, IV)

Extrakce DNA z kultur (Článek III, IV)

Extrakce DNA z půdy (Článek I, II)

Kultivace kvasinek (Článek III, IV)

Kvantifikace houbové biomasy (Článek II)

Molekulární taxonomická identifikace izolovaných kvasinek (Článek III, IV)

Odběr půdních vzorků (Článek I, II, III)

Polymerázová řetězová reakce (Článek I, II, III, IV)

Popis nových druhů kvasinek (Článek III)

Příprava knihovny pro sekvenaci environmentální DNA (Článek I, II, III, IV)

Výsledky a diskuze

V rámci této dizertační práce byly pomocí sekvenace environmentální DNA popsány dominantní druhy kvasinek v půdě a opadu temperátního lesa a byl studován vliv abiotických a biotických faktorů na společenstvo kvasinek. Byly srovnávány faktory, které ovlivňují složení společenstva kvasinek s těmi, které jsou důležité pro vláknité houby. Na základě sekvenace environmentální DNA byly vybrány izoláty vhodně reprezentující společenstvo kvasinek na studovaných lokalitách v ŠLP Křtiny. Tyto izoláty byly využity pro fyziologickou charakterizaci s cílem objasnit zapojení kvasinek do cyklu uhlíku a rozkladu mrtvé organické hmoty. Dále byly popsány tři nové druhy kvasinek s vysokou relevancí pro temperátní lesy.

Diverzita a složení kvasinkových společenstev v půdě a opadu temperátních lesů

Na osmnácti lokalit v ŠLP Křtiny s porosty smrku, dubu a buku byl opakovaně odebrán opad a půda za účelem izolace kvasinkových kmenů. Celkem bylo izolováno 198 kmenů kvasinek a 128 z nich bylo identifikováno do 24 rodů: *Candida*, *Cryptococcus*, *Cutaneotrichosporon*, *Cystofilobasidium*, *Dioszegia*, *Fellozyma*, *Filobasidium*, *Heterocephalacria*, *Holtermanniella*, *Itersoniella*, *Kwoniella*, *Lachancea*, *Leucosporidium*, *Pichia*, *Piskurozyma*, *Rhodospordiobolus*,

Saitozyma, *Sporobolomyces*, *Solicoccozyma*, *Trichosporon*, *Vishniacozyma*, *Yamadamyces*. Neidentifikované kmeny patrně patří k více než 20 dosud nepopsaným druhům kvasinek. Předchozími studie ukázaly, že více než 30% druhů kvasinek nacházejících se v lesích mírného pásma doposud nebylo popsáno (Mestre et al., 2011; Yurkov et al., 2012b; Yurkov et al., 2016), což je v souladu s našimi závěry. Proto jsou další studie zabývající se popisem diverzity kvasinek a formálním popisem nových druhů nezbytné.

Byly popsány tři nové druhy kvasinek, které patří do pododdělení Pucciniomycotina, třídy Microbotriomycetes. Tyto druhy byly označeny jako *Leucosporidium krtinense* f.a. sp. nov., *Yurkovia mendeliana* sp. nov. a *Libkindia masarykiana* sp. nov. Protože dva nové druhy nemohly být zařazeny do existujících rodů, byly popsány nové rody *Libkindia* gen. nov. a *Yurkovia* gen. nov. Analýza environmentální DNA naznačuje, že tyto druhy jsou ve studovaném prostředí hojné, a tedy pravděpodobně významné pro půdu temperátního lesa.

V ŠLP Křtiny bylo pomocí sekvenace environmentální DNA zkoumáno 82 lokalit, 18 z nich ve čtyřech sezónách. Počet druhů kvasinek na jednotlivých odběrových místech byl 28 ± 9 v půdě a 31 ± 11 v opadu. Tyto počty jsou srovnatelná s jinými kultivačními studii (Mestre et al., 2011; Yurkov et al., 2011; Yurkov et al., 2012a). Více než 90% kvasinkových environmentálních sekvencí bylo identifikováno jako kvasinky z oddělení Basidiomycota, které také dominovaly mezi izolovanými kmeny, což je v souladu s předchozími kultivačními studii (např. Maksimova a Chernov, 2004; Yurkov et al., 2012b; Yurkov et al., 2016) i studii využívajícími sekvenace environmentální DNA (Buée et al., 2009; Yarwood et al., 2010).

Relativní zastoupení kvasinkových sekvencí v rámci houbového společenstva se pohybovalo v rozmezí 0,4-14,3% v půdě a 0,2-9,9% v opadu. Vyšší relativní zastoupení kvasinek v environmentální DNA v půdě ve srovnání s opadem bylo také zjištěno ve studii Urbanové et al. (2015). Tradiční pohled získaný na základě kultivačních studií ovšem předpokládá vyšší zastoupení kvasinek v opadu, který představuje vhodnější prostředí pro jejich přežití. (Yurkov et al., 2012a). Množství houbové biomasy na gram substrátové sušiny v opadu ovšem může být až desetkrát vyšší než v půdě (Baldrian et al., 2013), což naznačuje, že některé kvasinky jsou dobře přizpůsobeny půdnímu prostředí s nízkým obsahem živin a zaujímají zde specifickou niku, díky čemuž dosahují vysokého relativního zastoupení.

Složení společenstva kvasinek se významně lišilo mezi opadem a půdou. Půdní společenstvo kvasinek v ŠLP Křtiny bylo reprezentováno několika dominantními OTU a mnoha méně četnými OTU, zatímco složení společenstva v opadu bylo rovnoměrnější. Mezi nejpočetnější OTU patří OTU identifikované jako *Solicoccozyma terricola* (Fillobasidiales), *Saitozyma podzolica* (Tremellales), *Apiotrichum porosum* (Trichosporonales), *Apiotrichum dulcitum* (Trichosporonales), *Cutaneotrichosporon moniliiforme* (Trichosporonales) a *Fellozyma inositophila* (Sporidiobolales). Srovnání relativního zastoupení kvasinek získaného pomocí kultivací a sekvenace environmentální DNA není možné, jelikož kultivace byla zaměřena na zachycení kvasinkové diverzity, a počet izolátů, které byly izolovány z jednotlivých míst, nemusí nutně odpovídat jejich četnosti v prostředí. Naše výsledky však ukazují dobrý překryv mezi oběma metodami, což značí, že půdní kvasinky patří mezi dobře kultivovatelné mikroorganismy.

Biotická a abiotická faktory ovlivňující složení kvasinkových společenstev

Biotické a abiotické faktory ovlivňující složení kvasinkových společenstev byly studovány pomocí sekvenace environmentální DNA. Společenstva v opadu byla významně odlišná v rámci porostů smrku, dubu a buku, zatímco vliv abiotických podmínek byl nižší. Je známo, že vysoký podíl kvasinek vyskytujících se v opadu se skládá z taxonů, které do tohoto prostředí vstoupily pasivně (např. Vishniac, 2006; Yurkov et al., 2012a), jelikož fylosféra obsahuje bohatá společenstva kvasinek (Yurkov et al., 2008). Je pravděpodobné, že kvasinky v opadu jsou selektovány na základě výskytu sekundárních metabolitů spíše než na základě obsahu makronutrientů, což naznačuje, že tyto sekundární metabolity představují pro kvasinky významný zdroj živin. Tato hypotéza může být podpořena zjištěním Urbanové et al. (2015), která demonstrovala, že opad se stejným obsahem živin ale jiným původem hostil odlišné mikrobiální komunity. Yurkov et al. (2012a) ukázal, že půda pod opadem hostí rozmanitější kvasinkové komunity než půda pod pařezy, kde stabilní a specifické podmínky přispívají růstu několika specializovaných druhů kvasinek. Navíc relativní zastoupení kvasinek bylo odlišné v porostech dominovaných smrkem, dubem a bukem.

Výsledky naznačují, že vliv dominantní dřeviny na druhové složení společenstva kvasinek v půdě je pravděpodobně složitější než v opadu a některé druhy stromů pravděpodobně hostí specifická kvasinková společenstva, zatímco jiné mohou sdílet podobné taxony, stejně jako v případě houbových společenstev (Urbanová et al., 2015). Zdá se, že půdní společenstva jsou

také vysoce ovlivněna abiotickými faktory, zejména pH a vlhkostí, což je v souladu s předchozími studiemi, které ukázaly vliv těchto dvou faktorů na složení kvasinkových společenstev (Vishniac, 2006; Yarwood et al., 2010; Yurkov et al., 2016).

Role kvasinek v rozkladu organické hmoty a využití zdrojů uhlíku kvasinkami

Za účelem zjištění potenciální role kvasinek v rozkladu mrtvé organické hmoty a schopnosti využívat různé zdroje uhlíku bylo charakterizováno 25 izolátů. Zkoumané izoláty reprezentovaly OTU, které společně představovaly 42,3% a 29,4% sekvencí kvasinek v půdě a opadu. Testované kvasinky patřily do podkmenů Saccharomycotina, třídy Saccharomycetes (čtyři druhy), Agaricomycotina, třídy Tremellomycetes (16 druhů) a Pucciniomycotina, třídy Microbotryomycetes (pět druhů).

Předchozí studie prokázaly, že kvasinky z oddělení Basidiomycota jsou schopny rychleji a účinněji rozkládat rostlinný opad a dřevo než kvasinky z oddělení Ascomycota (Fonseca, 1992; Sampaio, 1999; Botha, 2006; Middelhoven, 2006). Aktivita čtyř kvasinek z oddělení Ascomycota se v naší studii podstatně nelišila od kvasinek z oddělení Basidiomycota, z nichž některé také vykazovaly omezené schopnosti z hlediska rozkladu organických látek.

Kvasinky často produkovaly enzymy účastníci se rozkladu hemicelulózy: β -xylosidázu, α -galactosidázu, β -galactosidázu, β -manosidázu, β -glucuronidázu, and arabinosidázu. Aktivita těchto enzymů byla pozorována u 44-92% kmenů. Schopnost využívat celulózu byla relativně častá, jelikož 84% kvasinek vykazovalo schopnost produkovat exocelulázu a všechny testované kmeny vykazovaly vysokou aktivitu β -glukosidázy. Aktivita lakázy, enzymu, který se pravděpodobně účastní rozkladu ligninu a dalších fenolických látek, byla pozorována jen výjimečně a pouze vázaná na buněčnou stěnu. Chitinázovou aktivitu vykazovalo 72% kvasinkových kmenů, nicméně tato aktivita byla ve většině případů velmi nízká.

Zdá se, že pouze několik druhů kvasinek je schopno účinně rozkládat celulózu, chitin nebo hemicelulózy, avšak většina z nich může účinně působit jako mutualisté, kteří využívají produkty rozkladu dodávané jinými mikroorganismy. Tento názor je podpořen pozorováním vysokého množství kvasinek při rozkladu rostlinného opadu a houbových mycelií (Voříšková a Baldrian, 2013; Brabcová et al., 2016) a schopností akumulovat uhlík z celulózy (Štursová et al., 2012).

Výsledky sekvenace environmentální DNA na studovaných lokalitách se však zdají být protichůdné, jelikož ukazují, že relativní zastoupení kvasinek je vyšší v půdě než v opadu, i když rozkladné procesy probíhají rychleji v opadovém horizontu. Jednobuněčnost kvasinek je pravděpodobně také důvodem pro vysoký podíl enzymové aktivity vázané na buněčnou stěnu. Tato adaptace pravděpodobně slouží k snadnějšímu příjmu produktů rozkladu do buněk kvasinek, které enzymy produkují.

Kultivační studie i studie založené na sekvenaci environmentální DNA naznačují, že půdní kvasinky jsou početnější v půdách mírných a boreálních lesů, pro které jsou typické pomalé rozkladné procesy. I když nejčastěji využívanými zdroje uhlíku byly mono- a oligosacharidy, mnoho půdních kvasinek je polytrofických. Existuje rostoucí množství důkazů o tom, že kvasinky z oddělení Basidiomycota mohou využívat různé enzymatické mechanismy, které mohou být aktivovány v určité fázi jejich životního cyklu (Oberwinkler, 2017). Proto můžeme očekávat, že schopnosti půdních kvasinek jsou mnohem rozmanitější než ty, které jsou běžně měřeny v laboratoři a budoucí studie studující rozklad organických látek v lesních půdách a opadů pomocí mezo- a mikrokosmů, metatranskriptomiky a stabilních izotopů, by se měly zaměřit také na kvasinky.

Rozdíly mezi kvasinkami a vláknitými houbami

Převládající růstová forma hubového organismu (vláknitá nebo kvasinková) ovlivňuje jeho realizovanou niku. Proto jsme porovnali schopnost produkovat široké spektrum enzymů u kvasinek a vláknitých saprotrofních hub a faktory ovlivňující složení společenstva kvasinek a tří ekofyziologických skupin vláknitých hub (saprotrofů, ektomykorhizních hub (ECMF) a arbuskulárně mykorhizních hub (AMF)).

Kvasinky jsou typicky schopné produkovat širší spektrum enzymů, které jim umožňují využívat biopolymery obsažené v odumřelé rostlinné biomase, nicméně většinu těchto enzymů produkují v nízkých koncentracích, a proto je jejich zapojení do rozkladných procesů nižší. Abychom podpořili tuto hypotézu, porovnali jsme schopnost produkce vybraných enzymů pomocí testu API ZYMTM u kvasinek s jinými skupinami saprotrofních vláknitých hub: se dřevem asociovanými houbami z oddělení Ascomycota, saprotrofními mikromycety, houbami bílé hniloby, houbami hnědé hniloby a houbami z oddělení Basidiomycota podílejícími se na

rozkladu opadu (Eichlerová et al., 2015). Složení a aktivita enzymů produkovaných půdními kvasinkami se liší od hub z oddělení Basidiomycota podílejících se na rozkladu opadu a hub bílé a hnědé hniloby. Některé s dřevem asociované houby z oddělení Ascomycota a saprotrofními kromycety vykazovaly enzymatické schopnosti podobné vlastnostem kvasinek. Kvantitativní přístup však ukázal, že enzymatické schopnosti kvasinek byly významně odlišné od všech ostatních funkčních skupin hub. Celkově byly enzymatické aktivity měřené v kulturách kvasinek nižší než u ostatních skupin hub.

Pro porovnání faktorů ovlivňujících složení společenstva kvasinek a vláknitých hub bylo ve čtyřech ročních obdobích studováno 18 lokalit, 6 z nich dominovaných smrkem, bukem a dubem. Kvasinky byly v mnoha ohledech podobné jiným funkčním skupinám vláknitých hub (ECMF, AMF, saprotrofům). Nesouvislé lesní porosty dominované bukovými, dubovými nebo smrkové lesy, hostily odlišná společenstva vláknitých hub i kvasinek. Společenstva vláknitých hub i kvasinek nacházející se v opadu měla rovnoměrnější zastoupení kvasinkových druhů než půdní společenstva. Obě skupiny v půdě i opadu byly v jednotlivých porostech charakterizovány několika indikátorovými druhy s vysokou specificitou, ovšem nízkou relativní četností. V opadu byl hlavním faktorem určujícím složení obou skupin hub druh dominantní dřeviny. V půdě byl významným faktorem nejen druh dominantní dřeviny, ale také abiotické podmínky. Bylo také zjištěno několik odlišností, které potvrzují specificitu kvasinkových společenstev. Ukázali jsme, že kvasinková společenstva jsou do jisté míry ovlivněna jinými environmentálními vlastnostmi než ostatní ekofyziologické skupiny hub, nejbliže však mají k saprotrofům. Kvasinky tedy v lesních ekosystémech reprezentují významnou skupinu hub s mnoha specificky, které pravděpodobně souvisí s jejich jednobuněčnou růstovou formou.

Závěry

Tato práce se skládá ze 4 článků, které přispívají k porozumění ekologii a roli kvasinek v půdě a opadu temperátního lesa. V prvním článku byly pomocí sekvence environmentální DNA popsány dominantní druhy kvasinek v půdě a opadu temperátního lesa a byl studován vliv abiotických a biotických faktorů na společenstvo kvasinek. Ukázali jsme, že kvasinky představují významnou část houbových společenstev s vyšším relativním zastoupením v půdě

než v opadu. V opadu se kvasinky značně lišily mezi dubovými, bukovými a smrkovými porosty. Faktory ovlivňující složení kvasinkových společenstev v půdě jsou pravděpodobně složitější a kombinují vliv abiotických podmínek a vegetace.

Ve druhém článku byl porovnán vliv dominantní vegetace a abiotických podmínek na složení společenstva kvasinek a vláknitých hub. Přestože společenstva kvasinek a vláknitých hub reagovala v mnoha ohledech podobně, významné rozdíly byly také identifikovány. Lze tedy konstatovat, že kvasinky mají jedinečnou ekologii v lesních ekosystémech, která může souviset s jejich jednobuněčnou růstovou formou.

Ve třetím článku byly popsány tři nové druhy kvasinek patřící do pododdělení Pucciniomycotina, třídy Microbotryomycetes: *Leucosporidium krtinense* f.a. sp. nov., *Yurkovia mendeliana* sp. nov. a *Libkindia masarykiana* sp. nov. Analýza environmentální DNA ukázala, že tyto druhy představují hojné taxony ve studovaném prostředí, což naznačuje jejich vysokou relevanci pro ekosystém mírných lesů.

Ve čtvrtém článku byla u 25 izolátů zkoumána schopnost rozkladu organických látek a schopnost využívat vybrané zdroje uhlíku. Výsledky ukazují, že kvasinky představují navzdory taxonomické heterogenitě skupinu hub se specifickou výživovou strategií odlišnou od jiných hub. Zdá se, že pouze několik druhů kvasinek je schopno účinně rozkládat celulózu, chitinu nebo hemicelulózy, avšak většina kvasinek může účinně působit jako mutualisté, kteří využívají produkty rozkladu dodávané jinými mikroorganismy. Jednobuněčnost kvasinek je pravděpodobně také důvodem pro vysoký podíl enzymové aktivity vázané na buněčnou stěnu. Tato adaptace pravděpodobně slouží k snadnějšímu příjmu produktů rozkladu do buněk kvasinek, které enzymy produkují.

Introduction

Forests are major terrestrial ecosystems that cover more than 40 million km² and represent 30% of the global land area (Keenan et al., 2015). Microbial communities inhabiting upper soil horizons represent an important component of forest ecosystems. These communities are complex assemblages of prokaryotic and eukaryotic organisms, including archaea, bacteria, algae, protists and fungi that mediate a wide range of biogeochemical processes. They play an important role as decomposers, plant symbionts or pathogens, influencing the C turnover and retention and the availability of other nutrients (Trivedi et al., 2013; Uroz et al., 2016; Baldrian, 2017). Therefore, understanding of their role in these processes is thus essential for understanding forest ecosystems. Fungi are the most studied microbes in temperate forests soils. They exhibit a variety of growth forms and trophic strategies including saprotrophs obtaining organic compounds from dead organic matter or various symbionts.

Saprotrophic fungi are considered to be the most efficient decomposers found in forest ecosystem due to their ability to produce a variety of extracellular lignocellulolytic enzymes and the capability to readily colonize new substrates. Saprotrophic fungi may occur in two growth forms (regardless of their taxonomical relatedness) – as filamentous organisms or yeasts that typically exist as single cells. Yeasts are polyphyletic heterogeneous group of fungi that includes both the members of Ascomycota and Basidiomycota. Functionally, yeasts can be conceived as special adaptation to live in liquid or semi liquid mediums with a high concentration of easy-to-use nutrients (Starmer and Lachance, 2011). However, most yeasts, even those that grow as single-celled organisms during most of their lifecycle, are able to switch to filamentous growth as a response to changing environmental conditions. Some of them produce only pseudohyphae, cylindrical cells that are more similar to elongated yeast cells than to real hyphae, but many species can form typical hyphae too. Thus, most yeasts are not exclusively unicellular in the traditional sense.

The predominant growth form (filamentous or yeasts) affects the realized niche of the fungus. It is assumed that fungal hyphae allow it to bridge sites with unfavourable conditions and cross nutrient-poor spots in searching for the heterogeneously distributed nutrient resources. This enables them to easily colonize new substrates and virtually dominate certain decomposition niches (de Boer et al., 2005). Yeasts have to rely on local resources and are, therefore, highly

affected by the patchiness of soil properties. Dispersal abilities of these two growth forms may also differ. Yeast cells are easily transmitted with air and water currents, while hyphal chains attached to a substrate have a lower probability of distribution.

Distribution of yeasts in forest topsoil

Litter usually hosts highly abundant and variable yeast communities with high proportion of transient species brought to this habitat from phyllosphere that contain abundant tree species-specific yeast populations (Yurkov et al., 2008). Yeast communities in soils seem to be less numerous and diverse (Yurkov et al., 2012a). The number of yeasts that mostly occur in the top 10 cm of soil usually ranges between hundreds and thousands per gram (Botha, 2006, 2011), however, the relative proportion of yeast sequences compared to those of the filamentous fungi seems to be higher in soil (Urbanová et al., 2015).

Approximately 130 yeast species have been reported to be associated with soils worldwide (reviewed in (Yurkov et al., 2011) which indicates that soil is a primary habitat of these species. Several adaptations might facilitate yeast capability for surviving in this environment. For example, species frequently found in soil have been shown to grow in media with low concentrations of nutrients (Kimura et al., 1998; Botha, 2006). Oligotrophy is thought to provide a competitive advantage over other soil microbes. Yeasts have developed active mechanisms allowing them to outcompete other species involving e.g. killer activity, substrate depletion, acidification and ethanol production (e.g. Golubev, 2006; Starmer and Lachance, 2011).

Culture-based studies on yeast communities from upper forest soil horizons have yielded mainly isolates belonging to the Basidiomycota (e.g. Golubev, 2006; Mestre et al., 2011; Starmer and Lachance, 2011; Yurkov et al., 2012a; Yurkov et al., 2012b). It has been reported that saprotrophic basidiomycetous yeast are able to break down plant litter and wood more rapidly than Ascomycetes (Fonseca, 1992; Sampaio, 1999; Botha, 2006; Middelhoven, 2006). Although some exceptions exist, most ascomycetous yeasts tested so far efficiently utilized simple sugars, while their ability to degrade complex polysaccharides was reported as absent or low (Fonseca, 1992; Sampaio, 1999; Botha, 2006; Middelhoven, 2006). Therefore, they are often considered to be primary inhabitants of fresh litter or rhizosphere (e.g Middelhoven, 2006; Mestre et al., 2011). In contrast, basidiomycetes are expected to be more abundant in the nutrient-limited bulk soil.

Besides metabolic adaptations, yeast communities in the bulk soil tend to aggregate and form biofilms surrounded by polysaccharide capsules that facilitate their survival in this environment.

Importance of yeasts in soil and litter

The decomposition and carbon utilization by various groups of filamentous fungi that are considered as primary degraders of organic matter in temperate forest soil and litter have been frequently addressed (e.g. Martinez et al., 2005; Baldrian et al., 2011; Eichlerová et al., 2015). However, the role of yeasts in these processes received less attention. Although yeasts were repeatedly isolated from decaying plant material indicating that they might be involved in decomposition of such materials, those studies mainly focused on description of the novel yeast species (e.g. Péter et al., 2003; Middelhoven, 2006; Middelhoven and Kurtzman, 2007; Kurtzman et al., 2011). Our understanding of functional relationships of yeasts in decomposition processes is thus limited to a few studies (e.g. Sampaio, 1999; Middelhoven, 2006; Yurkov et al., 2012b). The initial phase of fresh litter decomposition starts with the rapid depletion of simple sugars by fast-growing and often fermenting yeasts which may not experience much competition during this phase and are often brought to the litter horizon with freshly fallen litter as a part of the phyllosphere. During the litter decomposition, these species are replaced by other yeasts (often basidiomycetous) that can utilize a wider spectrum of carbon sources (e.g. Margesin et al., 2005; DeRito and Madsen, 2009). Culture-independent studies that targeted the involvement of fungal communities during the decomposition showed that some operational taxonomic units (OTUs) identified as yeast species tend to rapidly increase with time indicating their involvement in this process (e.g. Bueé et al., 2009; Voříšková and Baldrian, 2013; Voříšková et al., 2014).

Other important functions of yeast in forest ecosystems are related to their ability to grow on rock surfaces (Sterflinger and Prillinger, 2001; Burford et al., 2003) where they contribute to the weathering thus contributing the phosphorus and sulphur cycles within soil. In addition, yeasts have also been observed to solubilize insoluble phosphates making this nutrient more readily available to plants (Burford et al., 2003; Botha, 2006, 2011). Yeasts also play an important role in formation of soil aggregates due to the ability of many species to produce extracellular polymeric capsules that bind soil particles (Vishniac, 1995; Botha, 2006, 2011). Yeasts also interact with other organisms in soil and litter. Many different types of interactions with animals such as mutualism or antagonistic interactions have been observed, but most of them have been

so far studied mainly *in vitro*. Yeasts may also serve as a food source for soil inhabiting bacteria, invertebrates and protists (Botha, 2006; Yurkov et al., 2008; Botha, 2011). A growing number of studies indicate that plant growth may be directly or indirectly enhanced by yeasts in the rhizosphere (Medina et al., 2004; Nassar et al., 2005; Cloete et al., 2010).

Effect of biotic and abiotic conditions on yeast communities

Cultivation studies showed that yeast communities on a single plot consist of a few species only and thus exhibit low α -diversity (Yurkov et al., 2011). Variability in a community composition on a larger scale (β -diversity) is usually very high (e.g. Slavikova and Vadkertiova, 2000; Vishniac, 2006; Starmer and Lachance, 2011; Yurkov et al., 2012b) indicating that yeast distribution in soils is often fragmented with a few species only shared between sampling sites. It is considered that yeast community composition is not limited by dispersal constraints (Fonseca and Inácio, 2006; Starmer and Lachance, 2011; Francesca et al., 2014) and, therefore, we can expect that yeast communities might be affected by local environmental properties also on a larger scale than just at the level of patchiness of soil properties. It has been reported that community composition and abundance of yeasts reflect abiotic conditions such as pH, water activity, temperature and nutrient availability. Also effect of biotic conditions have been previously reported, especially the effect of dominant trees on the composition of yeast communities in temperate forest soils has been addressed and significant effect has been shown several times (e.g. Wuczkowski and Prillinger, 2004; Yurkov et al., 2004; Yurkov et al., 2011; Mestre et al., 2014). However, despite all of the above information, drivers of yeast communities need to be confirmed in culture-independent studies.

Aims of the study

Despite the evidence that yeasts represent an integral part of soil fungal communities, their role in forest ecosystems received so far little attention. Due to unicellularity, we can expect that yeast communities will be affected by different factors than filamentous fungi. Our current knowledge about soil-inhabiting yeasts is based mainly on cultivation experiments that might give a biased picture of the yeast community. Unfortunately, despite the existence of high-

throughput sequencing datasets, this approach has not yet been used for specific analyses of yeasts in forest topsoils.

The aim of this thesis was to expand the current knowledge about the diversity and ecological role of yeasts in the litter and soil of temperate forests. To reach this aim, I have combined high throughput sequencing (HTS) with strain isolation and characterization.

The aims of my PhD thesis were:

1. To describe yeast communities in soil and litter of a temperate forest using high-throughput sequencing of environmental DNA, identify dominant yeast species and explore how the community of yeasts changes across a range of abiotic and biotic factors (Paper I).
2. To compare the effect of dominant vegetation and site properties on the community composition of yeasts and filamentous fungi using HTS of environmental DNA (Paper II).
3. To isolate yeasts from forest topsoil and to describe novel taxa among the yeasts most abundant in environmental DNA surveys (Paper III).
4. To screen representative isolates of abundant yeasts for the traits relevant to their involvement in organic matter transformation and nutrition and compare their decomposition potential with other groups of saprotrophic filamentous fungi (Paper IV).

To answer these questions, field sampling experiments were conducted in the area of the Training Forest Enterprise Masaryk Forest Křtiny of the Mendel University in Brno (Křtiny forest). Due to the variation of environmental conditions and stand composition, the area is suitable for the characterization of fungal communities in the temperate forest zone.

Materials and Methods

Bioinformatic analyses of amplicon sequencing data (Paper I, II, III, IV)

Cultivation of yeasts (Paper III, IV)

Description of new yeast species (Paper III)

DNA extraction from cultures (Paper III, IV)

DNA extraction from soil (Paper I, II)

Enzyme assays (Paper III, IV)

Library preparation for DNA high-throughput sequencing (Paper I, II, III, IV)

Molecular taxonomical identification of isolated yeast strains (Paper III, IV)

Polymerase chain reaction (Paper I, II, III, IV)

Quantification of fungal biomass (Paper II)

Soil sampling (Paper I, II, III)

Statistical and diversity analyses (Paper I, II, III, IV)

Results and Discussion

For the first time, HTS was used in order to identify dominant yeast species and explore how yeast community reflects the abiotic and biotic factors including variable ground vegetation and the composition of the tree layer. The factors that are shaping yeast community composition with those that are important for filamentous fungi were compared. The combination of HTS and isolations was used to select those isolates that were representative for the yeasts community and these isolates were further used for physiological characterization in order to elucidate the involvement of yeast in carbon cycling and decomposition of dead organic matter. Furthermore, three novel yeast species with high relevance for the temperate forest environment were described.

Diversity and community composition of yeasts in temperate forest soil and litter

Eighteen sites in the Křtiny forest dominated by spruce, beech and oak were repeatedly sampled to isolate yeast strains. In total, 198 strains were isolated and 128 of them were identified as members of 24 genera: *Candida*, *Cryptococcus*, *Cutaneotrichosporon*, *Cystofilobasidium*, *Dioszegia*, *Fellozyma*, *Filobasidium*, *Heterocephalacria*, *Holtermanniella*, *Itersonilia*, *Kwoniella*, *Lachancea*, *Leucosporidium*, *Naganishia*, *Oberwinkleozyma*, *Pichia*, *Piskurozyma*,

Rhodosporeidiobolus, *Saitozyma*, *Sporobolomyces*, *Solicoccozyma*, *Trichosporon*, *Vishniacozyma*, *Yamadamyces*. The rest of the isolated strains probably belong to more than 20 yet undescribed yeast species. This is in accordance with previous studies that indicated that more than 30% of yeast species inhabiting temperate forests have not been described previously (Mestre et al., 2011; Yurkov et al., 2012b; Yurkov et al., 2016) Therefore, further studies dealing with the description of yeast diversity and formal description of new yeast species are necessary.

Three new yeast species belonging to the subphylum Pucciniomycotina, class Microbotriomycetes were described. These species were named as *Leucosporidium krtinense* f.a. sp. nov., *Yurkovia mendeliana* sp. nov., and *Libkindia masarykiana* sp. nov. Since the later two novel taxa cannot be assigned to existing genera, two new genera, *Libkindia* gen. nov. and *Yurkovia* gen. nov. were also described. Based on the analysis of environmental DNA, the new species constitute common and abundant taxa in the studied environment which indicates their high environmental relevance in the temperate mixed forest ecosystems.

Eighty-two sites in the Křtiny forest were explored with HTS, 18 of them across four seasons. The species richness of yeasts at individual sites was 28 ± 9 in soil and 31 ± 11 in litter. These numbers are comparable to the number of species obtained with cultivation approaches (e.g. Mestre et al., 2011; Yurkov et al., 2011; Yurkov et al., 2012a). Basidiomycetous yeasts accounted for more than 90% of sequence reads in our study and also dominated among isolated strains. This is in line with the previous reports concerning forest soils that also yielded mainly isolates belonging to this group (e.g. Maksimova and Chernov, 2004; Yurkov et al., 2012b; Yurkov et al., 2016). The same was also shown in other culture-independent surveys (e.g. Buée et al., 2009; Yarwood et al., 2010).

Relative abundance of yeast sequences within the total fungal community ranged from 0.4-14.3% in soil and 0.2-9.9% in litter. Higher mean relative abundances of yeasts in soil than in litter has also been indicated by the analyses of amplicon sequencing data by Urbanová et al., 2015. The traditional view based on cultivation studies expects, however, higher abundances of yeasts in litter than in soil as litter represents more suitable habitat for survival of yeast species than soil (Yurkov et al., 2012a). Considering the fact that the amount of fungal biomass in litter per g substrate dry mass can be 10-fold higher than in soil (Baldrian et al., 2013), we can

conclude that some yeasts are well adapted to the nutrient-poor soil environment and occupy specific niches that allow them to reach high relative abundances.

Yeast communities differed significantly between litter and soil. Soil yeast community in the studied temperate forest was highly uneven, represented by a few highly abundant operational taxonomic units (OTUs) and many rare taxa, while the yeast community in litter was more even. The most abundant OTUs identified in metagenomics study were *Solicoccozyma terricola* (*Fillobasidiales*), *Saitozyma podzolica* (*Tremellales*), *Apiotrichum porosum* (*Trichosporonales*), *Apiotrichum dulcitum* (*Trichosporonales*), *Cutaneotrichosporon moniliiforme* (*Trichosporonales*) and *Fellozyma inositophila* (*Sporidiobolales*). Unfortunately, comparison of relative abundances of yeast species obtained with cultivations and HTS is not possible as the cultivations were focused on capturing the yeast diversity and thus, number of strains that were isolated from individual sites does not necessarily correspond to their abundance on plates. However, our results showed a good overlap between cultivated and detected species suggesting that soil yeasts can be fairly well cultured.

Biotic and abiotic drivers of yeast community composition

Biotic and abiotic drivers affecting yeast community composition were studied using amplicon sequencing of environmental DNA. Communities in litter were significantly different among tree species while the effect of abiotic conditions was lower. It is known that a high proportion of litter-associated yeast communities is composed of taxa that are not restricted to this habitat and may passively enter litter (e.g. Vishniac, 2006; Yurkov et al., 2012a). Litter input may contribute substantially to the composition of yeast communities because phylloplane may contain abundant tree species-specific yeast populations reaching up to millions of cells per gram (Yurkov et al., 2008). It is also likely that yeasts are selected by the composition of secondary metabolites in litter rather than the content of macronutrients, indicating that these secondary metabolites are the source of their nutrition. Indeed, litters with similar nutrient content but of different origin were found to host different microbial communities (Urbanová et al., 2015). Also Yurkov et al. (2012a) showed that soil collected underneath litter hosted more variable communities than soils underneath logs where selective and stable conditions promote growth of

few highly specialized soil-borne yeasts. This hypothesis may be also supported by the fact that the relative abundance of yeasts was significantly different between dominant tree species. Our results suggest that relationship between dominant trees and yeast communities in soil may be more complex, and perhaps result from the strong effect of some tree species while others may share similar taxa. This would not be surprising, as stands of different trees exhibit different levels of specificity to their soil fungal communities (Urbanová et al., 2015). On the other hand, soil communities seemed to be highly affected by abiotic factors, especially by pH and moisture. This is in agreement with previous studies that showed the effect of these two factors on community composition of yeasts (Vishniac, 2006; Yarwood et al., 2010; Yurkov et al., 2016).

Decomposition potential and the utilization of carbon sources by yeasts

25 yeast species were tested for their potential involvement in decomposition of dead organic matter and ability to utilize different carbon sources. The studied isolates represented OTUs that together accounted for 42.3% and 29.4% of the sequence counts of yeasts in soil and litter, respectively. They belonged to three lineages of fungi, Saccharomycotina, class Saccharomycetes (four species), Agaricomycotina, class Tremellomycetes (16 species) and Pucciniomycotyna, class Microbotryomycetes (five species).

It has been repeatedly demonstrated that saprotrophic basidiomycetous yeasts are able to break down plant litter and wood more rapidly and efficiently than Ascomycetes (Fonseca, 1992; Sampaio, 1999; Botha, 2006; Middelhoven, 2006). In our study, the activity of four ascomycetous yeasts did not differ substantially from basidiomycetous yeasts, some of which also displayed a limited decomposition potential. Yeast isolates frequently produced enzymes involved in the degradation of hemicellulose: β -xylosidase, α -galactosidase, β -galactosidase, β -mannosidase, β -glucuronidase, and arabinosidase activity was observed in 44-92% of strains. The ability to utilize cellulose was relatively common, with 84% of strains producing exocellulase, and all of the tested yeast strains exhibited high β -glucosidase activity. The activity of laccase, an enzyme that potentially contributes to the transformation of lignin and other phenolics, was rarely observed, and only in association with yeast cell walls. Chitinase activity was present in 72% of yeast strains, although it was typically low.

While the efficient decomposition of cellulose, chitin or hemicelluloses is probably restricted to only a few yeast taxa, most yeasts can efficiently act as mutualists that utilize products of decomposition, provided by other microbes. This view is supported by the observation of yeasts associated with decomposing litter and fungal mycelia (Voříšková and Baldrian, 2013; Brabcová et al., 2016) as well as the accumulation of carbon from cellulose (Štursová et al., 2012). The HTS results of yeast abundance, however, seem to be contradictory, showing that the relative share of yeasts is higher in soil than in litter despite decomposition rates are higher in the latter environment. The unicellularity of yeasts is probably also the reason for the association of their enzymes with their cell walls. This should ensure that decomposition products are produced at the cell surface and can be readily taken up.

Both culture-dependent and culture-independent studies suggest that soil yeasts are more prominent in temperate and boreal soils, where decomposition rates are slow. Although the C sources most frequently utilized by the screened yeasts were mono- and oligosaccharides, many soil yeasts are polytrophic. There is a growing body of evidence that basidiomycetous yeasts possess diverse enzymatic machinery that can be activated in a certain stage of their life cycle (Oberwinkler, 2017). Therefore, we can expect that capabilities and functions of soil yeasts are far more diverse than those routinely measured in the lab. Thus, future studies that address decomposition in forest soils using meso- and microcosms, metatranscriptomics and stable isotopes probing should include fungi commonly considered as yeasts.

Difference between yeasts and filamentous fungi

The predominant growth form of fungi (filamentous or yeasts) affects its realized niche. Therefore, enzyme production patterns of yeasts and filamentous saprotrophs were compared as well as the factors shaping community composition of yeasts and three ecophysiological guilds of filamentous fungi (saprotrophs, ectomycorrhizal fungi (ECMF), and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)).

Yeasts are typically able to produce multiple enzymes that allow them to utilize carbohydrate biopolymers, however, they produce most of these enzymes in lower extent and thus their involvement in decomposition processes is probably lower. To prove this hypothesis, API

ZYMTM was used to compare yeasts with other groups of saprotrophic filamentous fungi: wood-associated Ascomycota, saprotrophic micromycetes, white-rot fungi, brown-rot fungi and litter decomposing Basidiomycota (Eichlerová et al., 2015). Composition and activity of enzymes produced by soil yeasts was different from litter decomposing Basidiomycota, white-rot fungi, and brown-rot fungi. Some wood-associated ascomycetes and saprotrophic micromycetes showed enzymatic capabilities similar to those of the yeasts. However, a quantitative approach showed that the analysed properties of yeast enzymatic machineries were significantly different from all other functional groups of fungi. Overall, enzyme activities measured in yeast cultures were lower than in the other groups of fungi.

To compare factors shaping community composition of yeasts and filamentous fungi, 18 sites, 6 of them dominated by spruce, beech and oak were sampled in 4 seasons. Yeasts were found to be in many respects similar to other functional groups of filamentous fungi (ECMF, AMF, saprotrophs). Non-contiguous forest stands dominated by mature beech, oak or spruce harboured distinct filamentous fungal and yeast communities. Litter communities of filamentous fungi as well as yeasts had significantly higher evenness than soil communities. Both litter and soil communities of yeasts and filamentous fungi in each stand type were characterized by a subset of indicator species with high fidelity but relatively low abundance. In litter, the main factor driving community composition of both groups was the dominant tree species. In soils both the dominant tree species and local abiotic variables were important drivers. On the other hand, several dissimilarities indicating the specificity of yeast communities were found as well. We showed that yeast communities are to some extent shaped by other environmental properties, however, they seem to be most closely related to saprotrophs. Therefore, this group may have unique ecology in forest ecosystems which may be related to their unicellular growth form and, therefore, we should see them as a unique group of fungi with many specifics.

Conclusions

This thesis consists of 4 papers that contribute to the understanding of ecology and role of yeasts in temperate forest topsoil. In the first paper, amplicon sequencing of environmental DNA was

used to describe the composition of yeast communities and identify the potential biotic and abiotic drivers of community assembly. Yeasts represented a substantial proportion of fungal communities with higher relative abundance in soil. In litter, yeast communities differed significantly among beech, oak and spruce-dominated stands. Drivers of community assembly were more complex in soils and comprised the effects of abiotic environmental conditions and vegetation.

In the second paper, effects of dominant vegetation and local site properties on community composition of yeasts and filamentous fungi were compared. Even though yeasts' and filamentous fungal communities were in many respects similar to each other, many differences are also evident. Therefore, it can be concluded that yeasts have unique ecology in forest ecosystems which may be related to their unicellular growth form.

In the third paper three novel yeast species were described, all belonging to the subphylum Pucciniomycotina, class Microbotryomycetes: *Leucosporidium krtinense* f.a. sp. nov., *Yurkovia mendeliana* sp. nov., and *Libkindia masarykiana* sp. nov.. Based on the analysis of environmental DNA, the new species constitute common and abundant taxa in the studied environment which indicates their high environmental relevance in the temperate mixed forests ecosystems.

In the fourth paper, the decomposition potential and carbon utilization profiles of twenty five dominant yeasts from a temperate forest topsoil was explored. The results indicate that despite taxonomic heterogeneity, yeasts represent a fungal group with a specific nutritional strategy dissimilar from other soil fungi. While the efficient decomposition of hemicellulose, cellulose or chitin appears to be restricted to only a few taxa, results of utilization of carbon sources indicate that most yeasts can efficiently act as mutualists that utilize products of decomposition, provided by other microbes. Importantly, large fraction of total enzyme activity was associated with yeast cell surfaces. This adaptation should ensure that the decomposition products are produced at the cell surface of the unicellular microorganisms and are readily available to the producers of the enzymes.

Použitá literatura - References

- Baldrian, P., 2017. Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiology Reviews* 41, 109-130.
- Baldrian, P., Větrovský, T., Cajthaml, T., Dobiášová, P., Petránková, M., Šnajdr, J., Eichlerová, I., 2013. Estimation of fungal biomass in forest litter and soil. *Fungal Ecology* 6, 1-11.
- Baldrian, P., Voříšková, J., Dobiášová, P., Merhautová, V., Lisá, L., Valášková, V., 2011. Production of extracellular enzymes and degradation of biopolymers by saprotrophic microfungi from the upper layers of forest soil. *Plant and Soil* 338, 111-125.
- Botha, A., 2006. Yeasts in Soil, In: Péter, G., Rosa, C. (Eds.), *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 221-240.
- Botha, A., 2011. The importance and ecology of yeasts in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1-8.
- Brabcová, V., Novaková, M., Davidová, A., Baldrian, P., 2016. Dead fungal mycelium in forest soil represents a decomposition hotspot and a habitat for a specific microbial community. *New Phytologist* 210, 1369-1381.
- Buée, M., Reich, M., Murat, C., Morin, E., Nilsson, R.H., Uroz, S., Martin, F., 2009. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist* 184, 449-456.
- Burford, E.P., Fomina, M., Gadd, G.M., 2003. Fungal involvement in bioweathering and biotransformation of rocks and minerals, *Mineralogical Magazine*, p. 1127.
- Cloete, K.J., Valentine, A.J., Botha, A., 2010. Effect of the soil yeast *Cryptococcus laurentii* on the photosynthetic water and nutrient-use efficiency and respiratory carbon costs of a Mediterranean sclerophyll, *Agathosma betulina* (Berg.) Pillans. *Symbiosis* 51, 245-248.
- de Boer, W., Folman, L.B., Summerbell, R.C., Boddy, L., 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews* 29, 795-811.
- DeRito, C.M., Madsen, E.L., 2009. Stable isotope probing reveals *Trichosporon* yeast to be active in situ in soil phenol metabolism. *ISME Journal* 3, 477-485.
- Eichlerová, I., Homolka, L., Žifčáková, L., Lisá, L., Dobiášová, P., Baldrian, P., 2015. Enzymatic systems involved in decomposition reflects the ecology and taxonomy of saprotrophic fungi. *Fungal Ecology* 13, 10-22.
- Fonseca, A., 1992. Utilization of tartaric acid and related compounds by yeasts: taxonomic implications. *Canadian Journal of Microbiology* 38, 1242-1251.
- Fonseca, Á., Inácio, J., 2006. Phylloplane Yeasts, In: Péter, G., Rosa, C. (Eds.), *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 263-301.

- Francesca, N., Carvalho, C., Sannino, C., Guerreiro, M.A., Almeida, P.M., Settanni, L., Massa, B., Sampaio, J.P., Moschetti, G., 2014. Yeasts vectored by migratory birds collected in the Mediterranean island of Ustica and description of *Phaffomyces usticensis* f.a. sp. nov., a new species related to the cactus ecoclade. *FEMS Yeast Research* 14, 910-921.
- Golubev, W.I., 2006. Antagonistic Interactions Among Yeasts, In: Péter, G., Rosa, C. (Eds.), *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 197-219.
- Keenan, R.J., Reams, G.A., Achard, F., de Freitas, J.V., Grainger, A., Lindquist, E., 2015. Dynamics of global forest area: Results from the FAO Global Forest Resources Assessment 2015. *Forest Ecology and Management* 352, 9-20.
- Kimura, Y., Nakano, Y., Fujita, K., Miyabe, S., Imasaka, S., Ishikawa, Y., Sato, M., 1998. Isolation and characteristics of yeasts able to grow at low concentrations of nutrients. *Yeast* 14, 233-238.
- Kurtzman, C., Fell, J.W., Boekhout, T., 2011. *The Yeasts: A Taxonomic Study*. Elsevier Science.
- Maksimova, I.A., Chernov, I.Y., 2004. Community Structure of Yeast Fungi in Forest Biogeocenoses. *Microbiology* 73, 474-481.
- Margesin, R., Fonteyne, P.A., Redl, B., 2005. Low-temperature biodegradation of high amounts of phenol by *Rhodococcus* spp. and basidiomycetous yeasts. *Research in Microbiology* 156, 68-75.
- Martinez, A.T., Speranza, M., Ruiz-Duenas, F.J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillen, F., Martinez, M.J., Gutierrez, A., del Rio, J.C., 2005. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International Microbiology* 8, 195-204.
- Medina, A., Vassileva, M., Caravaca, F., Roldan, A., Azcon, R., 2004. Improvement of soil characteristics and growth of *Dorycnium pentaphyllum* by amendment with agrowastes and inoculation with AM fungi and/or the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Chemosphere* 56, 449-456.
- Mestre, M.C., Fontenla, S., Rosa, C.A., 2014. Ecology of cultivable yeasts in pristine forests in northern Patagonia (Argentina) influenced by different environmental factors. *Canadian Journal of Microbiology* 60, 371-382.
- Mestre, M.C., Rosa, C.A., Safar, S.V., Libkind, D., Fontenla, S.B., 2011. Yeast communities associated with the bulk-soil, rhizosphere and ectomycorrhizosphere of a *Nothofagus pumilio* forest in northwestern Patagonia, Argentina. *FEMS Microbiology Ecology* 78, 531-541.
- Middelhoven, W.J., 2006. Polysaccharides and phenolic compounds as substrate for yeasts isolated from rotten wood and description of *Cryptococcus fagi* sp.nov. *Antonie Van Leeuwenhoek* 90, 57-67.

- Middelhoven, W.J., Kurtzman, C.P., 2007. Four novel yeasts from decaying organic matter: *Blastobotrys robertii* sp. nov., *Candida cretensis* sp. nov., *Candida scorzettiae* sp. nov. and *Candida vadensis* sp. nov. *Antonie Van Leeuwenhoek* 92, 233-244.
- Nassar, A.H., El-Tarabily, K.A., Sivasithamparam, K., 2005. Promotion of plant growth by an auxin-producing isolate of the yeast *Williopsis saturnus* endophytic in maize (*Zea mays* L.) roots. *Biology and Fertility of Soils* 42, 97-108.
- Oberwinkler, F., 2017. Yeasts in Pucciniomycotina. *Mycological Progress* 16, 831-856.
- Péter, G., Tornai-Lehoczki, J., Fülöp, L., Dlačhy, D., 2003. Six new methanol assimilating yeast species from wood material. *Antonie Van Leeuwenhoek* 84, 147-159.
- Sampaio, J.P., 1999. Utilization of low molecular weight aromatic compounds by heterobasidiomycetous yeasts: taxonomic implications. *Canadian Journal of Microbiology* 45, 491-512.
- Slavikova, E., Vadkertiova, R., 2000. The occurrence of yeasts in the forest soils. *Journal of Basic Microbiology* 40, 207-212.
- Starmer, W.T., Lachance, M.-A., 2011. Chapter 6 - Yeast Ecology A2 - Kurtzman, Cletus P, In: Fell, J.W., Boekhout, T. (Eds.), *The Yeasts* (Fifth Edition). Elsevier, London, pp. 65-83.
- Sterflinger, K., Prillinger, H., 2001. Molecular taxonomy and biodiversity of rock fungal communities in an urban environment (Vienna, Austria). *Antonie Van Leeuwenhoek* 80, 275-286.
- Štursová, M., Žifčáková, L., Leigh, M.B., Burgess, R., Baldrian, P., 2012. Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS Microbiology Ecology* 80, 735-746.
- Trivedi, P., Anderson, I.C., Singh, B.K., 2013. Microbial modulators of soil carbon storage: integrating genomic and metabolic knowledge for global prediction. *Trends in Microbiology* 21, 641-651.
- Urbanová, M., Šnajdr, J., Baldrian, P., 2015. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees. *Soil Biology and Biochemistry* 84, 53-64.
- Uroz, S., Buée, M., Deveau, A., Mieszkin, S., Martin, F., 2016. Ecology of the forest microbiome: Highlights of temperate and boreal ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 103, 471-488.
- Vishniac, H.S., 1995. Simulated in situ competitive ability and survival of a representative soil yeast, *Cryptococcus albidus*. *Microbial Ecology* 30, 309-320.
- Vishniac, H.S., 2006. A multivariate analysis of soil yeasts isolated from a latitudinal gradient. *Microbial Ecology* 52, 90-103.

- Voříšková, J., Baldrian, P., 2013. Fungal community on decomposing leaf litter undergoes rapid successional changes. *ISME Journal* 7, 477-486.
- Voříšková, J., Brabcová, V., Cajthaml, T., Baldrian, P., 2014. Seasonal dynamics of fungal communities in a temperate oak forest soil. *New Phytologist* 201, 269-278.
- Wuczowski, M., Prillinger, H., 2004. Molecular identification of yeasts from soils of the alluvial forest national park along the river Danube downstream of Vienna, Austria ("Nationalpark Donauauen"). *Microbiological Research* 159, 263-275.
- Yarwood, S.A., Bottomley, P.J., Myrold, D.D., 2010. Soil microbial communities associated with Douglas-fir and red alder stands at high- and low-productivity forest sites in Oregon, USA. *Microbial Ecology* 60, 606-617.
- Yurkov, A., Maximova, I., Chernov, I.Y., 2004. The comparative analysis of yeast communities in birch forests of the European part of Russia and Western Siberia.
- Yurkov, A., Wehde, T., Kahl, T., Begerow, D., 2012a. Aboveground Deadwood Deposition Supports Development of Soil Yeasts. *Diversity* 4, 453.
- Yurkov, A.M., Chernov, I., Tiunov, A.V., 2008. [Influence of *Lumbricus terrestris* earthworms on the structure of the yeast community of forest litter]. *Mikrobiologija* 77, 121-125.
- Yurkov, A.M., Kemler, M., Begerow, D., 2011. Species accumulation curves and incidence-based species richness estimators to appraise the diversity of cultivable yeasts from beech forest soils. *PLoS One* 6, e23671.
- Yurkov, A.M., Kemler, M., Begerow, D., 2012b. Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes. *Fungal Ecology* 5, 24-35.
- Yurkov, A.M., Rohl, O., Pontes, A., Carvalho, C., Maldonado, C., Sampaio, J.P., 2016. Local climatic conditions constrain soil yeast diversity patterns in Mediterranean forests, woodlands and scrub biome. *FEMS Yeast Research* 16, fov103.

Publikace, které jsou podkladem dizertace

Článek I

Mašínová T, Bahnmann BD, Větrovský T, Tomšovský M, Merunková K & Baldrian P (2017): Drivers of yeast community composition in the litter and soil of a temperate forest. *FEMS Microbiology Ecology* **93**: fiw223.

Článek II

Bahnmann B, Mašínová T, Halvorsen R, Davey M, Sedlák P, Tomšovský M, Baldrian P: Effects of oak, beech and spruce on the distribution and community structure of fungi in litter and soils across a temperate forest. Submitted for publication.

Článek III

Mašínová T, Pontes A, Carvalho C, Sampaio JP & Baldrian P (2017): *Libkindia masarykiana* gen. et sp. nov., *Yurkovia mendeliana* gen. et sp. nov. and *Leucosporidium krtinense* f.a. sp. nov., isolated from temperate forest soils. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **67**: 902-908

Článek IV

Mašínová T, Yurkov A, Baldrian P: Forest soil yeasts: Decomposition potential and the utilization of carbon sources. Submitted for publication

Curriculum Vitae: Tereza Mašínová (roz. Poláčková)

Education:

Since 2013: Ph.D, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic,
Specialization: Microbiology

7/2011 – 1/2012: Aarhus University (Denmark), Erasmus stay

2011 - 2013: M.Sc, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic,
Specialization: Botany

2008 – 2011: B.Sc, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic,
Specialization: Ecological and Evolutionary Biology

Research experience:

Since 2013: Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Institute of
Microbiology, Laboratory of Environmental Microbiology (Ph.D Student)

Research advisor: Dr. Petr Baldrian

6/2016; 5/2017: Leibniz Institute DSMZ, German Collection of Microorganisms and Cell
Cultures (Germany) – two short stays with focus on characterization of yeast strains

Research advisor: Dr. Andrey Yurkov

1/2015 – 2/2015: Universidade Nova de Lisboa (Portugal), The Yeast Genomic Lab
Stay with focus on description on new yeast species

Research advisor: Dr. José Paulo Sampaio

2010 – 2013 Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic, Phycology
research group (B.Sc. and M.Sc student)

Research advisor: Dr. Jiří Neustupa

Fellowships and grants

2016 – 2019 – Grant from the Grant Agency of the Charles University, Prague
Combining metagenomics and cultivation approaches to investigate the community of yeasts
in forest soil

2015 – Short Term Scientific Mission grant from the COST Action FP1305: Forest soil yeasts - description of diversity and functional potential

Relevant Courses

5/2015 – Molecular Community Analysis (PhD Course of Ecoinformatics), Copenhagen, Denmark

10/2014 – Real Time PCR Course, Prague

5/2014 – Metagenome Data Analysis Workshop, Stockholm, Sweden

Selected Conference Presentations

6/2017 – ISME Meeting of Young Soil Microbial Ecologists, Prague, *lecture*

10/2016 – Meeting of COST Action: Belowground biodiversity and global change, Prague, *lecture*

9/2016 – 27th Congress of the Czechoslovak Society for microbiology, Prague, *lecture*

8/2016 – 16th International Symposium on Microbial Ecology, Montreal, Canada, *poster*

12/2015 – Ecology of soil Microorganisms 2015, Prague, *poster*

List of Publications:

Papers related to Ph.D. thesis:

Mašínová T, Bahnmann BD, Větrovský T, Tomšovský M, Merunková K & Baldrian P (2017): Drivers of yeast community composition in the litter and soil of a temperate forest. *FEMS Microbiology Ecology* **93**: fiw223.

Mašínová T, Pontes A, Carvalho C, Sampaio JP & Baldrian P (2017): *Libkindia masarykiana* gen. et sp. nov., *Yurkovia mendeliana* gen. et sp. nov. and *Leucosporidium krtinense* f.a. sp. nov., isolated from temperate forest soils. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **67**: 902-908

Mašínová T, Yurkov A, Baldrian P: Forest soil yeasts: Decomposition potential and the utilization of carbon sources. Submitted for publication

Bahmann B, Mašínová T, Halvorsen R, Davey M, Sedlák P, Tomšovský M, Baldrian P: Effects of oak, beech and spruce on the distribution and community structure of fungi in litter and soils across a temperate forest. Submitted for publication.

Other papers:

Woodard K, Kulichová J, Poláčková T & Neustupa J (2016) Morphometric allometry of representatives of three naviculoid genera throughout their life cycle *Diatom Research* 31: 231-242

Kohout P, Charvátová M, Štursová M, Mašínová T, Tomšovský M, Baldrian P. Clearcutting initiates complex restructuralization of fungal communities in soil and tree roots and alters decomposition. Submitted for publication.