

## Posudek školitele na Ph.D. práci doktoranda Biologické fakulty JU v Českých Budějovicích

Mgr. K. Horňák: Diversity and functioning of bacterioplankton assemblages in the Římov reservoir  
Školitel: Prof. Karel Šimek

Podkladem předkládaná doktorské práce jsou tři publikace (značené jako **I-III**), z nichž dvě jsou publikované (**I a II**) v časopisech s impakt faktorem  $> 2,2$  a třetí práce (**III**) je v recenzním řízení v časopise FEMS Microbial Ecology s impakt faktorem 2,769. Celá disertace včetně obecného úvodu do problematiky, výsledků a nejdůležitějších závěrů je logicky uspořádána a je sepsána velmi přehledně v anglickém jazyce. Mgr. Horňák je prvním autorem publikací **II a III**.

Hlavním záměrem této práce byl výzkum posunů v parametrech bakteriální aktivity a složení bakteriálních společenstev v závislosti na změnách podmínek prostředí v přehradní nádrži Římov, tj. dostupnosti limitujících živin, predace bakterií prvoky a virové lyze bacterioplanktonu. Specificky byly analyzovány parametry aktivity jednotlivých bakteriálních buněk metodou průtokové cytometrie a fluorescenční *in situ* hybridizace (metoda FISH) v kombinaci s mikroautoradiografií (**Publikace III**). Posuny ve složení bakteriálních společenstev byly ve všech pracích (**Publikace I a III**) studovány metodikou FISH s genetickými sondami pokrývajícími různě velké fylogenetické skupiny bacterioplanktonu. Ve všech pokusech se podařilo prokázat zásadní roli malé podskupiny *Betaproteobacteria* v dynamice bacterioplanktonu celé nádrže Římov a silný vliv dostupnosti fosforu na růst a aktivitu hlavních skupin bacterioplanktonu (detaily viz **Publikace I-III**).

Metodicky byly při studiu interakcí bakterií a prvoků využity specifické manipulační pokusy s různými velikostními frakcemi planktonu z nádrže Římov (**Publikace I-III**). Planktonní společenstva byla manipulována velikostní frakcionací na filtrech o porozitě  $0,8 \mu\text{m}$  (přítomny pouze bakterie a viry) a  $5 \mu\text{m}$  (bakterie, viry a rychle rostoucí heterotrofní bičíkovci) v porovnání s nefiltrovanými vzorky a tyto frakce byly exponovány v dialyzačních sáčcích *in situ*. Navíc stejné velikostní frakce planktonu odebrané např. v přítoku do nádrže byly přeneseny do jezerní části nádrže s významně sníženou dostupností fosforu. Tento přenos vlastně reprezentoval pokus, kde byly současně s „top-down“ manipulací výrazně změněny také „bottom-up“ parametry, tj. dostupnost limitujících živin. Alternativně, dostupnost živin byla manipulována přidávkou fosfátu (**Publikace II-III**) do pokusných lahví inkubovaných *in situ*.

Nejvýznamnějším přínosem doktorské práce Mgr. Horňáka je zjištění, které fylogenetické skupiny bakterií mají největší podíl na produkci a aktivitě bacterioplanktonu nádrže a také těsně korelují s podílem bakteriálních buněk s vysokým obsahem nukleových kyselin analyzovaných metodou průtokové cytometrie. Tyto buňky jsou obecně považovány za růstově neaktivnější část bacterioplanktonu, což tato disertace jasně prokázala. Svými parametry růstu a příjmu značených substrátů tomu nejlépe odpovídaly bakteriální genotypy hybridizující se sondou R-BT065 (malá podskupina *Betaproteobacteria*). Tato podskupina byla velmi silně aktivována jak zvýšenou dostupností živin, tak i zvýšeným predačním tlakem, a tak vykazovala schopnost velmi citlivě reagovat na náhlé změny ve významnosti limitujících faktorů. Jako jediná tato skupina vykazovala téměř 100% aktivních buněk na autoradiogramech (**Publikace III**), zatímco ostatní skupiny (např. *Cytophaga-Flavobacterium*), zejména za vysokého predačního tlaku, vykazovaly pokles podílu aktivních buněk. To již indikovalo snížené jejich kompetičních schopností při rychle měnících se podmínkách prostředí. Práce přinesla některé zásadní a nové poznatky umožňující formulaci konceptu různých strategií přežití pro některé taxonomicky definované planktonní skupiny bakterií za měnících se podmínek dostupnosti substrátů a intenzity predace.

Tato doktorská práce, jakož i současně probíhající doktorská práce RNDr. Jana Jezbery, vycházely z intenzivní týmové práce na společných pokusech. To také umožnilo studium a komplexní analýzu mnoha různých faktorů (měřených i dalšími pracovníky HBÚ, nebo zahraničními partnery), které mohou významně ovlivnit či navodit posuny ve složení společenstev planktonních bakterií.

Náplň zadané doktorské práce uskutečnil Mgr. Horňák v plném rozsahu. Zvolené metodiky vyžadují velkou pečlivost při provedení a poměrně dlouhé období nezbytné na zaškolení a získání metodických znalostí. Snaha autora kombinovat ekologické a taxonomické přístupy je nejcennějším přínosem této práce, jejímž předpokladem byla velká píle, schopnost si vhodně zorganizovat práci a přesně provést velmi komplikované pokusy a potom je také statisticky vyhodnotit.

Aktuálnost studované tematiky a její velmi kvalitní finální zpracování také dokladují publikace v časopisech s vysokým impakt faktorem. Celkově k práci nemám žádné zásadní připomínky, je dle mého názoru velmi kvalitní a vysoce převyšuje závazné požadavky na Ph.D. práci.

Význam, rozsah práce i její přínos pro pochopení dynamiky vybraných skupin bakterioplanktonu v kontextu jejich specifických reakcí na změny v dostupnosti živin, virové lyze a predace prvoků odpovídají požadavkům kladeným na doktorskou disertaci BF JČU a proto věřím, že předkládaná práce Mgr. Hornáka bude při obhajobě příznivě přijata.

České Budějovice, 15. března 2005

Prof. RNDr. Karel Šimek, CSc.

Školitel

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'K. Šimek', written in a cursive style.