

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Evy Hojerové
„Distribuce aerobních anoxygenních fotosyntetických bakterií ve Středozezemním moři“
(Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta, katedra genetiky, 2010)

Diplomová práce má 52 stran, autorka cituje 39 literárních odkazů a 6 zdrojů (www stránek) z internetu. Práce má standardní uspořádání a klade si za cíl:

- stanovit počet a zastoupení anoxygenních fotosyntetických (AAP) bakterií v rámci prokaryotických společenstev ve Středozezemním moři
- určit hlavní ekologické a fyziologické faktory na růst a dělení AAP bakterií.

V úvodu, který je poněkud obsáhlý (13 stránek) a vyznívá celkově jako literární přehled problematiky, autorka dobře soustředila nejdůležitější aktuální informace k tématu diplomové práce. Tato část je po věcné stránce napsána přehledně, s výbornou kulturou vyjadřování. V některých pasážích trochu připomíná stylem esej (autorka prezentuje některé poznatky, přičemž se trochu vzdaluje od citací, např. hned „úvodní části úvodu“), ale není to na závadu a text je i díky tomu dobře čitelný. Je zřejmé, že autorka uspořádala informace logicky, propojila různé zdroje k jednotlivým problémům a přehledně představila základní východiska pro svoji práci. Spolu se základní charakteristikou AAP bakterií, autorka uvádí údaje o jejich druhové rozmanitosti a fylogenetických vztazích, dále se zaměřuje na shrnutí hlavních poznatků o anoxygenní fotosyntéze, tj. o pigmentovém složení, struktuře a fungování fotosyntetického aparátu. Tato část práce svědčí o tom, že se autorka velmi dobře seznámila s danou problematikou a je dobře připravena k vlastní práci.

Poslední část „úvodu“ je věnována stručné charakteristice Středozezemního moře, jak z hydrologického hlediska, tak z hlediska základních informací o chemismu. Na rozdíl od předcházejících částí práce, autorka použila jen internetové zdroje informací.

V kapitole „Materiál a metody“ jsou popsány parametry dvou výzkumných plaveb ve značně odlišných částech Středozezemního moře (Jónské moře, a pobřežní oblast u Blanes a dále k Baleárským ostrovům). Vlastní použité metody infračervená epifluorescenční mikroskopie (IREM), fluorescenční in situ hybridizace (FISH) jsou popsány podrobně a je patrné, že autorka má s těmito procedurami osobní detailní zkušenost. V případě využití fluorometrického měření je informace stručná a omezuje se na konstatování účelu, typu použitého přístroje a základní informaci o kalibraci a odlišení signálu chlorofylu.

Výsledky jsou rozdělené do dvou částí. V první části autorka prezentuje výsledky stanovení počtu AAP bakterií a jejich podíl vůči ostatním heterotrofním prokaryotům. Společně s těmito výsledky jsou prezentovány informace o fytoplanktonu (jako počty buněk). Většina výsledků je prezentována formou grafů vertikální distribuce sledovaných skupin organismů spolu s profilem teplot. Druhá část výsledků, označená jako „Manipulační experimenty“, popisuje výsledky jednak pokusů s vlivem různé kvality a intenzity slunečního záření a jednak pokusů s omezením „predace“ na vývoj prokaryotního společenstva. Autorka potvrdila očekávaný výsledek, že plné sluneční ozáření v podmínkách při hladině způsobuje degradaci bakteriochlorofylu spojenou s mortalitou AAP bakterií. Ve tmě byl tento úbytek nejnižší. Velmi zajímavé výsledky ukazuje druhý experiment. Odstranění potenciálních predátorů (zooplankton) a alespoň částečná eliminace virů (naředěním filtrovanou vodou) se projevila v okamžitém nárůstu AAP bakterií a umožnila tak odhadnout růstovou rychlost.

Kapitola „Diskuze“ v rozsahu 2,5 strany bohužel nedává oponentovi moc možností ke komentáři, a podobně i závěry jsou formulovány velmi úsporně a konstatují v práci uvedená zjištěná fakta.

Práce se mi proto jeví poněkud nevyvážená. Na jedné straně, diplomová práce má dobře připravený literární přehled, evidentně je založena na rozsáhlém materiálu, jehož získání si vyžádalo velké úsilí při zpracování a počítání vzorků, jak z plaveb, tak z experimentů. Na druhé straně prezentace výsledků se jeví jako velmi stručná, jakoby se nepodařilo (možná

nestihlo) víc vytěžit z dostupných dat a diskuse v podstatě chybí. V diskusi se neobjevuje žádná nová informace, která by nezazněla již v úvodu nebo nebyla zmíněna ve výsledcích. Dovedl bych si představit dobrou diskusi založenou na literárním přehledu (pokud by kromě zobecnujících závěrů, byly využity více data z citovaných prací) v kombinaci se srovnáními, které autorka naznačila již ve výsledcích (např. Obr.4.8).

Autorka měla evidentně velmi dobré zázemí, jak metodické, přístrojové, tak z hlediska vlastního tématu práce, kdy mohla pracovat jako členka mezinárodního týmu. V popisu plaveb autorka zmiňuje, že byly sledovány další parametry prostředí, které „byly dále využity“. To jsem však ve výsledcích nezaznamenal. Možná z toho pramení určitá bezradnost jak interpretovat zjištěné výsledky týkající se značné variability množství AAP bakterií a jejich podílu k ostatním prokaryotům. Souvisí to podle mne i s poněkud nepřesnou charakteristikou Středozemního moře, jako obecně oligotrofního prostředí, kde zejména ve východní části je silná limitace živinami. Jen zběžný přehled výsledků hledání hesel „eutrophication“ a „Mediterranean Sea“ poskytne dostatek informací o rozsáhlé eutrofizaci některých oblastí, nejen okrajových moří. Ostatně autorka sama zmiňuje výskyt vodního květu na stanovišti u pobřeží Kréty, kde byly zjištěny významné počty AAP bakterií, což nesvědčí o zcela oligotrofních podmínkách. Potom i tyto výsledky spíše potvrzují, že výskyt i relativní podíl AAP bakterií je vyšší ve vodách s vyšším obsahem živin. Domnívám, že podrobnější analýza stavu prostředí (tj. koncentrace živin a, org. C) i údaje o složení fytoplanktonu (sinice a řasy) jsou předmětem dalšího zpracování dat v rámci zmíněných projektů a data z této diplomové práce budou proto velmi cenné.

Pro obhajobu bych navrhoval, kdyby autorka už v úvodní presentaci doplnila některá data o koncentraci živin, salinitě a chlorofylu, případně složení fytoplanktonu, při popisu studovaných oblastí Středozemního moře.

Také o výsledcích in situ hybridizace, se čtenář dozví něco málo v posledním odstavci kapitoly „Diskuze“, ačkoliv popisu této metodiky byla věnována velká pozornost.

K výsledkům experimentů, které autorka prezentuje na str. 42 by bylo dobré uvést podrobněji východiska a postup (výpočet) při stanovení růstové rychlosti bakterií.

Po formální stránce je práce napsána výborně, text je srozumitelný a výstižný, prakticky bez překlepů. Presentované výsledky jsou dobře dokumentované obrázky a grafy. Trochu obtížně jsem hledal vztah jednotlivých křivek počtů buněk k osám x (Obr.4.2 a Obr. 4.5). V legendě v obr. 4.12 není jasné co jsou to „varianty A/B“ (v textu se autorka zmiňuje, že pokus byl proveden ve dvou opakováních - jedná se zřejmě paralelní varianty, nikoliv pokusné varianty). Seznam literatury byl vypracován pečlivě, přesto v něm chybí dvě citace, které jsou uvedené v textu: Kolber a kol. 2000, a Yurkov, Czotonyi 2003. Dvě citace Yurkov, Beatty se stejným vročením (1998) měly být rozlišeny písmeny „a/b“ a toto rozlišení je nadbytečné u citace Amman a kol. (1990b).

Celkově lze konstatovat, že diplomová práce Bc. Evy Hojerové je přínosná. Autorka se evidentně dobře zorientovala v aktuální problematice AAP bakterií, zvládla metodiku a získala velmi cenné výsledky. I přes moje připomínky je patrné, že autorka zvládla metody a způsob presentace výsledků a práci doporučuji k obhajobě.

Navrhuji diplomovou práci Bc. Evy Hojerové „Distribuce aerobních anoxygenních fotosyntetických bakterií ve Středozemním moři“ hodnotit stupněm **velmi dobře**.

V Českých Budějovicích 25.ledna 2010



doc. RNDr. Libor Pechar, CSc.
Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích
Zemědělská fakulta

Posudek na diplomovou práci Evy Hojerové

Distribuce aerobních anoxygenních bakterií ve Středozemním moři

Diplomová práce Evy Hojerové má 52 stran, včetně 37 obrázků a grafů, 8 tabulek a 39 položek citované literatury. Zabývá se analýzou distribuce anoxygenních fototrofních bakterií na dvou transektech ve Středozemním moři a vlivem světla a predace na tyto organismy ve dvou manipulačních pokusech. Obecně se mi práce líbí, zcela určitě přináší nová zjištění v oboru, velmi kladně hodnotím design a výsledky druhého manipulačního pokusu.

Práce je sice logicky členěna, vyznačuje se ovšem jistou nevyvážeností jednotlivých pasáží a místy málo přehlednou prezentací výsledků. Zejména mě překvapil poněkud zdlouhavý úvod do problematiky, značně kontrastující s krátkou diskuzí. Například celá kapitola o anoxygenní fotosyntéze (kapitola 1.3) je víceméně zbytečná, uvážíme-li, že práce se zabývá distribucí a abundancí AAP a nikoliv metabolickými cestami a fotosyntetickým aparátem AAP. Stačilo zmínit princip v úvodních kapitolách. Vlastní výsledky však naopak mohly být srovnány a diskutovány zevrubněji, diskuze je obecně velmi chudá.

Autorka se nevyhnula několika překlepům, kterým by se dalo předejít pečlivým pročením práce před odevzdáním. Seznam citované literatury považují až na jednu výjimku za dostatečný.

Obecné připomínky:

Anotace: Anglická anotace ne úplně vystihuje podstatu práce, hovoří se zde o sinicích a fluorescenční in situ hybridizaci, přičemž konkrétní data o sinicích chybí a stejně tak i data získaná metodikou FISH. Dále, fylogenetika bakterií nemůže být určena pomocí fluorescenční in situ hybridizace, k tomu slouží jiné metody, kromě toho jsem výsledky z FISH analýz v práci vůbec nenašel (kromě jedné věty ve výsledcích a závěru), ačkoliv byla metodika FISH velmi podrobně popsána v metodické části.

Úvod: Kapitola 1.1 Pravděpodobně chybí klíčová citace, na Falkowskeho et al.

Metodika: Proč v metodice chybí popis 2 manipulačních pokusů a pracovní postup je prezentován až ve výsledcích? Autorka popisuje podrobně metodiku FISH pro tři skupinově specifické próby, výsledky ovšem nejsou prezentovány ani z *Alphaproteobacteria*, pro které próba jako jediná fungovala (viz poslední část výsledků).

Chybí podrobný popis použitých zatemnění u manipulačních pokusů – spektrální propustnosti folií, lahví, atd., případně i výrobců. Popis jednotlivých variant (prezentovaný až ve výsledkové části) je poněkud zmatený.

Výsledky:

Mám drobnou výhradu k prezentaci grafů – plynulé propojení bodů není úplně běžné, většinou se používá přímkové spojení bodů, pokud už nějaké propojení musí být. Takto se autorka nedostane do záporných hodnot, jak se několikrát stalo.

Dotazy a komentáře k výsledkům:

Plavba TransMed:

- Co mohlo být důvodem, že AAP nebyly nalezeny ve dvou stanicích (stanice 8 a 10), podmínky byly přeci obdobné?
- U grafů 4.2a-4.2e není jasné z kolika měření je udělán prezentovaný průměr, proč není uvedena směrodatná odchylka, případně rozmezí měřených hodnot?
- Strana 29 – jaké byly rozdíly v morfologii AAP mezi jednotlivými stanovišti?

- Grafy 4.2a-4.2e a 4.4 by se daly shrnout do dvou grafů – fytoplankton+teplota a AAP+všechna prokaryota, data by se tak dala lépe porovnávat.
- Chybí kompletně jakákoliv statistika

Plavba MODIVUS:

- Maximum AAP ve 40 m jsem zaregistroval pouze u dvou stanic a to M a D, u MD a CM jsem žádné maximum v uvedené hloubce neviděl. Výsledky ze stanice CM v souhrnném grafu 4.6 tudíž neodpovídají realitě.
- Chybí graf pro stanici C (stanice Coast)
- Prezentace grafů – viz výše
- Co je to bodová bakterie? Předpokládám, že autorka má na mysli kokální bakterie.
- Obr. 4.9 - čísla neodpovídají konkrétním bakteriálním morfotypům
- Jaký je názor autorky na přítomnost největších vláknitých bakterií v oblasti s vodním květem?

Pokusy:

Pokus I

- Chybí podrobný popis jednotlivých variant zatemnění lahví (spektrální propustnost)
- Co je zde myšleno kontrolou?
- Opět chybí statistika porovnání jednotlivých variant. Dvakrát větší rozdíl ovšem nevidím.
- Výsledky z kontroly nejsou prezentovány?
- Jaký byl vliv teploty na jednotlivé varianty u experimentu I? Inkubace probíhala v poměrně mělkých tancích, navíc na černé folii, tudíž předpokládám, že zatemněné varianty mohly být o dost teplejší.

Pokus II

- filtrace přes 1 μm neodstraní všechny bičíkovce, byly vzorky po filtraci prohlédnuty kvůli případné přítomnosti bičíkovců?
- Jak si vysvětlujete téměř stejnou dynamiku AAP v kontrole a ve variantě DL (ředěné)
- Výsledky varianty VF považují nicméně za velmi zajímavé
- Co je to útok virů?
- Chybí výsledky z FISH analýz pro *Alphaproteobacteria*

Přes shora uvedené drobné formální nedostatky a nepřesnosti vyhovuje práce Evy Hojerové plně požadavkům kladeným na diplomovou práci. Doporučuji přijmout její práci k obhajobě a navrhuji hodnocení **velmi dobře**.

V Českých Budějovicích, 21.01.2010

Jan Jezbera, PhD.

BC AV ČR, v.v.i., Hydrobiologický ústav