

Oponentský posudek magisterské práce Bc. Evy Žiškové „Analýza pigmentového složení přírodních společenstev sladkovodních fotosyntetických mikroorganismů“.

Vypracoval: Petr Znachor, znachy@hbu.cas.cz

Diplomová práce obsahuje 42 stránek textu a přílohy. Rozsáhlý třináctistránkový úvod uvádí čtenáře do problematiky pigmentového složení fytoplanktonu a možností jeho stanovení, místy zachází možná až do přílišných detailů. Uvedené cíle práce jsou jasné a přehledné. Jako přínosné hodnotím vytvoření přehledu spekter a retenčních časů nejběžnějších pigmentů. Metodika je přehledně členěna a nemám k ní žádné závažnější výhrady. Výsledky jsou až na pár drobností dobře zpracovány, diskuse však je ve srovnání s výsledky poměrně krátká. Chybí mi zde například bližší rozbor rozdílů v taxonomickém složení, zjištěných pomocí HPLC a mikroskopické analýzy (Strana 28 – 29). Jak si autorka vysvětluje, že se výsledky získané pomocí HPLC a mikroskopické analýzy v některých případech rozcházejí? Také kapitola výsledků 4.4 Závislost diversity pigmentů na míře trofie lokality by si zasloužila samostatnou kapitolu v diskusi. Zde prezentované výsledky nepůsobí věrohodně (viz. Komentář č. 18), avšak v diskusi by bylo možné je podpořit mnohými odkazy na literaturu. Při zmínce o PEG modelu v souvislosti se šumavskými jezery by bylo vhodné zdůraznit, že se jedná o jezera acidifikovaná, zatímco PEG model byl vypracován pro klasická jezera s plus minus neutrálním pH. I přes výše uvedené výhrady, práce splňuje nároky kladené na magisterskou práci a navrhuji její hodnocení stupněm velmi dobře.

K práci mám následující konkrétní připomínky:

1. Většina formálních připomínek se týká citací a práce s literaturou. Hned v první větě „Sinice a řasy jsou klíčovou složkou biocenózy jak v oceánech, tak i sladkovodních ekosystémech“ je uvedena citace Sarmiento & Descy 2008. Z abstraktu citované publikace je však zřejmé, že se zabývá něčím úplně jiným, než je význam sinic a řas ve vodních ekosystémech. V tomto případě by bylo mnohem vhodnější odkazovat např. na nějaký souhrnný článek o fytoplanktonu publikovaný v Nature či jinde nebo na monografii zabývající se fytoplanktonem např. Reynolds 1984.
2. U přímé citace typu „Alfons (2005) uvádí, že ...“ se píše rok zpravidla do závorky. Je třeba používat konzistentně v celé práci.
3. Stránka 7, řádek 3 – špatná citace „Andersen, Haxo, Lee a Kurgens (Rowan 1989).“
4. Strana 7, odstavec „Chlorofyl D“ – očekával bych citaci

5. Strana 7, druhý řádek od spoda – existuje i bakteriochlorofyl d? V textu je uveden pouze bchl c a e.
6. Taxonomické názvy doporučuji používat konzistentně v celé práci (Cyanophyceae vs Cyanophyta vs Cyanobacterie apod).
7. Strana 8, řádek 4 – pod povrchem – správně by mělo být pod hladinou?
8. Strana 8, řádek 7 – citace Hladik & Sofrová (1989) – domnívám se, že pro podporu předcházejícího tvrzení by měla být použita jiná citace.
9. Strana 9, řádek 8 – proč je uveden anglický název rozsivek Diatoms? Nevidím žádné opodstatnění.
10. Strana 11, řádek 7 – opět nevhodně použitá citace a opět Sarmento & Descy (2008). Použil bych citaci publikace, která se diskutovanou problematikou náročnosti mikroskopické analýzy zabývá.
11. Strana 11, řádek 9 – namísto citace Schlutter et al 2000 má správně být citace Schlutter et al 2006
12. Strana 12, citace Havskum et al. 2004 – v seznamu citací chybí název článku.
13. Strana 15, odstavec filtrace – u použitých filtrů bych uvedl i jejich porositu.
14. Strana 19, odstavec o světelné mikroskopii – použití 40ti násobného zvětšení se mi zdá nereálné, zpravidla se pro mikroskopickou analýzu používá řádově větší zvětšení.
15. Strana 21 – na začátku jsou zavedeny zkratky pro jednotlivá jezera (chybí u Čertova jezera), dále se však příliš nepoužívají.
16. Strana 28, obr. 4.8 – namísto čárového grafu bych použil sloupečkový graf
17. Všechny grafy udávající procentuelní zastoupení jednotlivých skupin bych předělal na sloupečkové, které se pro podobná vyjádření zpravidla používají.
18. Strana 31, obr. 4.10: Je nějaký důvod pro použití kubické regrese? Byla tato regrese signifikantní? Byla signifikantně lepší než lineární regrese? Z rozložení bodů se mi zdá, že dedukce vyvozované z grafu jsou spíše zbožné přání, ačkoli na základě údajů z literatury jsou tyto závěry nejspíše správné ☺.
19. Strana 33, citace Sommer (1986) – Sommer není jediným autorem, správně má být uvedeno Sommer et al. (1986)
20. Strana 34, řádek 6 – citace Mašín et al 2008 – v seznamu literatury je Mašín uveden jako jediný autor, navíc se špatným letopočtem, i když se na citovaném článku podílel kolektiv autorů včetně školitele ☺.

Oponentský posudek na diplomovou práci

Název práce: Analýza pigmentového složení přírodních společenstev sladkovodních fotosyntetických mikroorganismů

Autorka: Bc. Eva Žišková

Oponent: Mgr. Vojtěch Kasalický

Obecný souhrn

Eva Žišková se ve své diplomové práci věnuje možnosti využití pigmentů pro určení klíčových skupin řas a bakterií schopných fotosyntézy. Ve své práci využívá moderního přístupu k analýze mikrobiálního společenstva HPLC-CHEMTAX, který porovnává s klasickou mikroskopií. Její aktuálnost dokládají současné práce Schlütter et al. (2006), Wright & Jeffrey (2006) a Sarmento & Descy (2008). Přestože je práce hlavně metodická, její druhá část se věnuje sezónnímu výskytu pigmentů na několika odlišných lokalitách. Velmi oceňuji zapojení bakteriochlorofylu fotoheterotrofních bakterií (AAP) do analýzy pigmentů.

Formální stránka

Práce má 42 stran textu s obrázky a literaturou a 14 stran příloh. Práce je napsána přehledně, členěna klasicky, text bez častějších překlepů. Jednotlivé části jsou přiměřeně dlouhé. Výhrady mám k souznění cílů, výsledků a závěru. Zde bych očekával lepší obsahové propojení jednotlivých částí. Tabulky a obrázky nejsou úplně přehledné, v některých případech obsahují chyby ani nejsou příliš komentovány (viz dále). Doporučuji dále číslovat obrázky a tabulky podle jednoho klíče. Existuje např. tab. 4.1 (v kapitole 7), tab. 4.3. (v kapitole 4), ale tab. 4.2 jsem nenašel. Za vhodné rozhodnutí považuji začlenění charakteristik odběrů a absorpčních spekter jednotlivých pigmentů do příloh a nikoli do textu.

Komentáře k jednotlivým cílům a jejich naplnění

1. Cíl práce I - Vytvořit přehled spekter a retenčních časů

První cíl práce byl naplněn. Tato část se podrobně diskutována, navíc bych se nebál vyčlenit první část výsledků tomuto tématu. Autorka představuje 19 absorpčních spekter pigmentů extrahovaných do 7:2 aceton-metanolového roztoku. Pro budoucí využití této metody je takovýto přehled nutný, protože při použití různých extrakčních činidel se absorpční spektrum pigmentu liší. U většiny pigmentů autorka uvádí také retenční časy (RT) - chybí u alpha-karotenu a cis-sferoidenonu. V tomto případě by bylo vhodnější uvést interval nežli přesné hodnoty, protože se RT mohou lehce lišit (např. Obr. 3.3). Jsou tedy uvedené RT průměrem zjištěných hodnot? Chybně je uvedený RT u bakteriochlorofylu v Obr. 3.3.a 4.4 (dobře jsou popisky) i v příloze 2. Úplně nejlepší je uvést hypotetické pořadí pigmentů, jak by mohly procházet za sebou (rozdělit se) v koloně. Nad rámec svých cílů uvádí Eva Žišková také hmotnostní charakteristiku pigmentů, což je pravděpodobně spojeno s využitím hmotnostního spektrofotometru v návaznosti na HPLC.

2. Cíl práce II - Celoroční změny v koncentraci a různorodosti pigmentů

Druhý cíl práce by vyžadoval, dle mého názoru, větší pečlivost při zpracování. Sezónní dynamika koncentrace Chl a na sledovaných lokalitách je na obr. 4.1 díky píku chlorofylu na Plešném jezeře nepřehledná a trendy těžko viditelné, což je škoda. V obr. 4.2, 4.3 a 4.11 je chybou použití „kategorií“ a spojených bodů. Přesnější vyjádření je pomocí časové osy. Diverzitu pigmentů doporučuji vyjádřit přehlednějším způsobem než chromatogramy, např. počtem píků. V tabulce 4.1

není uveden Římov a Velká Amerika přináší jiné informace než ostatní.

Sezónní změny koncentrace Bchl a jsou velmi cenné výsledky přinášející zcela nové informace. Je škoda, že Eva Žišková nediskutuje víc sezónní trendy a životní strategii AAPs. Chybí propojení s měřenými faktory (teplota, vodivost), koncentrací karotenoidů, skupinami fytoplanktonu.

3. Cíl práce III - CHEMTAX a vliv trofie na diverzitu pigmentů

Pro naplnění třetího cíle si Eva Žišková vybrala sérii německých jezer. Hlavní náplní bylo porovnat výsledky získané pomocí programu CHEMTAX s mikroskopickým stanovením jednotlivých druhů řas a sinic. Jsem přesvědčen, že tento cíl byl naplněn, avšak nelíbí se mi prezentace výsledků.

V metodické práci bych považoval za didaktické uvést přehled diagnostických pigmentů pro jednotlivé skupiny řas a sinic. Stěžejní tabulka 4.3 mi připadá neúplná, neboť z ní nelze vyčíst zastoupení jednotlivých skupin fytoplanktonu – to má být přece předmětem porovnání, ne rody. Hodnoty jsou zmateně naznačeny jen u Bacillariophyceae. Proč je zde použit název Chromophyta místo Chrysophyceae? Není jasné, ze kterého jezera Nehmitz (N. či N. Süd) je chromatogram a) na obr. 4.6 a jezero Fuku SW je jednou klasifikováno jako oligotrofní (obr. 4.5, 4.7), jindy jako mezotrofní (obr. 4.6). Kolik jezer bylo vlastně analyzováno – 19 str. 25 a 26, 18 tab. 4.1d nebo 17 tab. 4.3?

V diskusi autorka představuje o metodu HPLC-CHEMTAX a možnost využití různých pigmentů při identifikaci různých skupin řas. Na základě jejích výsledků bych očekával zamyšlení nad nesrovnalostmi obou metod, např. opakovaným podhodnocováním rozsivek.

Otázky a náměty k diskusi

1. Jaké jsou výhody zvoleného poměru aceton-metanolu vůči klasickému protokolu?
2. Jak se liší zjištěná absorpční spektra pigmentů od spekter publikovaných např. ve Wright & Jeffrey (2006)?
3. Na Plešném jezeře (oproti Velké Americe) chybí jarní bakteriochlorofylové maximum, lze to nějak vystvětlit?
4. Zarážející jsou odběry s nulovým výskytem karotenoidů, ale s vysokou koncentrací chlorofylu a (např. Plešné jezero 26.5. a 9.7.), jak je to možné?
5. Jaké vylepšení je možné navrhnout pro používání programu CHEMTAX na základě vlastních zkušeností?
6. Které specificky bakteriální pigmenty byly zjištěny pomocí HPLC? Bylo by možné metodu CHEMTAX-HPLC rozšířit také na pigmentované bakterie?

Práce **splňuje** požadavky kladené na magisterské práce předkládané na PřF JU, a proto ji doporučuji k obhajobě.

Práci hodnotím klasifikačním stupněm **VELMI DOBŘE**.

V Českých Budějovicích dne 24.5.2009

Vojtěch Kasalický

