



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.



HYDROBIOLOGICKÝ ÚSTAV

Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice

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

Mgr. Vesna Grujić:

"Differential freshwater flagellate community response to bacterial prey with a focus on planktonic Betaproteobacteria"

Školitel: Prof. RNDr. Karel Šimek, PhD.

Hlavní skupina mikroorganismů, jež byla v disertaci studována - heterotrofní bičíkovci (zkratka „HNF“, z anglického heterotrophic nanoflagellates) - jsou drobné jednobuněčné organismy o velikosti většinou 2–8 μm , které jsou nejvýznamnějšími konzumenty bakterií ve sladkovodních ekosystémech. Záměrem práce byl výzkum, zda náhlé posuny ve složení bakterií z klíčových skupin bakterioplanktonu mohou navodit také významné posuny v růstových parametrech a složení společenstev HNF. Práce tedy měla odpovědět na otázku, zda různé druhy či skupiny planktonních bakterií reprezentují kořist o různé potravní kvalitě, což by se projevilo na růstu HNF a případně i na složení jejich přírodních společenstev. Případné rozdíly v růstu HNF by pak měly zásadní dopad na rychlost a účinnost přenosu organické uhlíku z bakterií do vyšší trofické úrovně jejich predátorů.

Téma této PhD práce bylo velmi inovativní, práce byla logisticky náročná a vyžadovala značné úsilí a zvládnutí velkého množství jak mikroskopických, tak molekulárně biologických metod. Práce vycházela z intenzivní týmové práce v rámci HBÚ i za účasti kolegů z Německa a Švýcarska, což podtrhuje významnost a tematickou atraktivitu práce v mezinárodním kontextu. Zejména si cením faktu, že vyústila do 3 publikací v klíčových časopisech oboru mikrobiální ekologie a limnologie, které jsou i základem předkládané práce.

Práce je logicky členěna do podkapitol: (1) Introduction, (2) Hypotheses and objectives, (3) Results and discussion, a (4) Conclusions and Perspectives. Hlavní výsledky jsou prezentovány ve třech publikacích. Všechny vycházely z podobného experimentálního uspořádání, které umožnilo efektivně manipulovat dostupnost a složení bakteriální kořisti pro HNF. Výchozí uspořádání bylo postupně významně modifikováno zejména zaváděním nových postupů molekulární biologie.

Článek 1: Byly použity přírodní vzorky společenstev heterotrofních bičíkovců získané ze dvou nádrží (Římov a Cep) během různých stádií sezónní sukcese. V této práci byly bičíkovcům nabídnuty vždy odděleně 3 různé druhy bakterií rodu *Limnohabitans*, které se významně lišily jak velikostí, tak tvarem. Výsledky jasně ukázaly významný druhově-specifický vliv kvality potravy na růstové parametry HNF. Podstatně se projevíly také rozdíly v růstu HNF mezi oběma studovanými lokalitami a v závislosti na rozdílné velikosti bičíkovců získaných během jarního maxima fytoplanktonu a během období tzv. „čiré vody“.

Článek 2: Tento článek souborně vyhodnotil výsledky všech pokusů, kdy bylo bičíkovcům postupně nabídnuto 16 různých druhů vodních bakterií v různých ročních obdobích. Byly použity čisté kultury ekologicky významných druhů bakterií, zejména ze skupiny Betaproteobacteria (rody *Limnohabitans*, *Polynucleobacter* a *Methylophilus*) a jednoho kmene ze skupiny Actinobacteria. Ukázalo se, že růst přírodních populací HNF je proměnlivý v závislosti na typu bakteriální kořisti, na jejich buněčných charakteristikách a na složení společenstev bičíkovců, která se v různých ročních obdobích lišila. Některé druhy bakterií, např. ze skupiny Actinobacteria, představovaly velmi chudý zdroj potravy, který umožnil pouze velmi omezený nebo žádný růst bičíkovců. Společenstva heterotrofních bičíkovců při přechodu na nabídnutou potravu procházela různě dlouhým adaptačním obdobím, během něhož docházelo ke změnám v jejich druhovém složení. Ve společenstvech HNF se prosadily ty druhy bičíkovců, které jsou nejlépe přizpůsobeny na lov převládající kořisti, a měly srovnatelně rychlý růst jako jejich bakteriální kořist. Práce také prezentuje zobecňující koncepční



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.

HYDROBIOLOGICKÝ ÚSTAV

Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice

model, který objasňuje rychlé změny ve složení jak společenstev bakterií, tak i jejich predátorů – bičíkovců, které významně urychlují přenos organického uhlíku od bakterií do vyšších trofických úrovní.

Článek 3: Tento článek je z metodického hlediska jednoznačně vrcholem předkládané PhD práce. Autorce se podařilo úspěšně otestovat a zavést metodiku tzv. dvojité hybridizace („double hybridization approach“), která umožňuje na stejném mikroskopickém preparátu s použitím fylogenetických sond pro bakterie a prvoky současně určit jak taxonomickou příslušnost bičíkovce, tj. predátora, tak i detekci druhů bakterií, tj. kořisti, přímo v potravních vakuolách daného bičíkovce. Tato kombinace dodává zcela nový rozměr studiu interakcí bakterií a prvoků *in situ*. Práce přinesla i některé vědecky prioritní výsledky, jako např. objev velké skupiny bezbarvých bičíkovců ze skupiny Cryptophyta (a jeho podskupiny CRY1), které jsou nejvýznamnějšími konzumenty bakterií v letním období. Tato skupina byla až donedávna považována za primárně autotrofní skupinu řas. Možnost porovnání metody FISH a sekvenčních dat také ukázala velké zkreslení absolutních počtů některých taxonů prvoků při samostatném použití metody NGS, pokud není doplněna vhodnou metodou na stanovení počtů vybraného taxonu bičíkovců.

Mgr. Vesna Grujčić realizovala náplň doktorské práce v plném rozsahu. Zvolená metodika vyžaduje velkou pečlivost při provedení a časté opakování některých analýz. Aktuálnost studované tématiky, její kvalitní zpracování a finální publikování také dokladují 3 publikace s IF = 3,383 – 9,664. Ve dvou případech je Vesna Grujčić prvním autorem, tj. u článku v *Applied and Environmental Microbiology* s IF = 3,807 a u článku *ISME Journal* s velmi vysokým IF = 9,664, a dále je klíčovým spoluautorem práce v časopisu *Limnology and Oceanography*. Velmi si cením vysokého stupně samostatnosti doktorandky, a zavedení zcela nových metod. To přispělo i k metodické inovaci oddělení Mikrobiální ekologie vody a prohloubení našich znalostí o diverzitě nejdůležitější skupiny prvoků, která se živí bakteriemi. Práci považuji za vynikající a nemám žádné připomínky.

Význam a rozsah práce jakož i její přínos pro pochopení potravních interakcí prvoků a bakterií odpovídají vysokým požadavkům, kladeným na doktorskou disertaci PŘF JU a proto věřím, že předkládaná práce Mgr. Vesny Grujčić bude při obhajobě příznivě přijata.

Prof. RNDr. Karel Šimek, CSc.
Školitel

České Budějovice, 12. dubna 2018