

Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Martiny Pravečkové

Předložená práce Martiny Pravečkové se zabývá indigenními bakteriemi sedimentu Strážského kanálu a jejich schopnosti anaerobní dehalogenace polychlorovaných bifenylnů (PCB). Po formální stránce působí práce už na první dojem úhledně, technické provedení obrázků, tabulek i textu je vzorné, zpracování svědčí o pečlivosti autora. Výjimečně dobrá je i jazyková stránka textu, který je až na drobnosti (např. začínat větu *And*) napsaný velmi pěknou angličtinou, je stylisticky zdařilý a čtivý. Rovněž je třeba ocenit velmi inteligentní zpracování taxonomických dat formou nejjednodušších vícerozměrných statistických analýz – PCA, RDA, multifaktoriální analýza, díky nimž dokázala autorka předpovědět, které populace se účastní reduktivní dehalogenace.

V úvodu se autorka věnuje PCB, jejich syntéze, vlastnostem, použití a nastiňuje jejich perzistenci. Dále je pojednáno o odbourání těchto látek pomocí bakterií v anaerobních a aerobních podmínkách. Celý úvod je napsaný erudovaně, je logicky členěný a čtivý. V sekci Materiál a metody je jasně demonstrováno, kolik experimentálních technik, ať už molekulárně biologických či analytických, si autorka úspěšně osvojila k dosažení svých výsledků. Mezi **hlavní výsledky práce patří především:**

- objev dosud nepopsaného taxonu, pravděpodobně z čeledi *Geobacteraceae*, se schopností reduktivní dehalogenace PCB; ve velmi zdařilé diskuzi pak autorka předpovídá, že příslušné RDH geny byly pravděpodobně získány horizontálním transferem;
- bakterie rodu *Dehalococcoides* mohou tvořit i minoritu velmi efektivní komunity schopné reduktivní dehalogenace.

K práci mám následující připomínky:

- V abstraktu se uvádí, že: *byly detekovány kmeny Dehalococcoides mccartyi CG4 a CBDB1*. Jedná se pravděpodobně o nešťastné vyjádření, je zde pouze shoda 16S rRNA genů.
- Str. 31 a dále: Autorka nesprávně uvádí pojmy sp. a spp. kurzívou.
- Str. 52: Popis obrázku by neměl být na jiné straně, než obrázek sám.
- Str. 46, primery 8f a 28f: Navrhoval bych uniformní značení, i když chápu, že se jedná o primery převzaté z literatury, kde je používáno oboje značení.
- Str. 50: I přes pečlivé zpracování se autorce vloudilo do práce: *Chyba! Nenalezen zdroj odkazů!* Navíc ještě tučně.
- Str. 63: Z práce není zřejmé, jaké polyaromatické uhlovodíky byly stanoveny.
- Str. 81: Zde by velice usnadnila orientaci nějaká tabulka či schéma pro SFM vzorky, aby bylo jasné, který vzorek co představuje – obdobná tabulka je uvedena až na str. 88.
- Str. 93: Plurál od *genus* je *genera*.

- Str. 103: Spojení *methanogens and Archaea* zde působí jako kdyby autorka methanogenní populace vyčleňovala z domény Archaea.
- Citace jsou jiným písmem než zbytek práce.

Tyto připomínky jsou v zásadě drobnosti, které nikterak nesnižují velmi vysokou odbornou kvalitu předložené práce.

K autorce mám dále následující dotazy:

1. Proč je uváděn na mnoha místech v práci rod *Dehalococcoides* v uvozovkách?
2. Na str. 31 je uvedeno, že zástupci rodu *Dehalococcoides* mají více než 98% podobnost ve svých 16S rRNA genech. Existují nějaké jiné markery, pomocí kterých lze zástupce tohoto rodu rozlišit?
3. Na str. 51 je pojednáno o sestrojení sedimentu prostých kultur. Zajímalo by mě, proč byl jako inokulum pro tento experiment vybrán vzorek M1? Dále je v práci uvedeno, že ve vzorku M1 byly efektivně degradovány výše chlorované PCB – je to vůbec pravda? Po pečlivém prostudování Obr. 14 se domnívám, že došlo k degradaci pouze PCB 47-49. Dále by mě zajímalo, proč nebyly bakterie pro zaočkování do sedimentu prostých kultur extrahovány klasickým postupem (např. pyrofosfátem sodným)?
4. Autorka uvádí, že prováděla 25-35 cyklů – na čem byl počet cyklů závislý? Lze pak negativní výsledky PCR na str. 70 a dále považovat za „neprůkaz“ daného genu? Byla provedena nějaká normalizace?
5. Z výsledků ~100% degradace Deloru 103 (str. 86) populacemi nabohacenými ze supernatantu kultury M1 lze usuzovat, že indigenní komunita má potenciál kompletní degradace PCB ze sedimentu. Co tedy dle autorky v konkrétních reálných podmínkách Strážského kanálu odbourávání brání a jaké by navrhla řešení pro zvýšení efektivity degradace?
6. Umožňují získaná data udělat obrázek podobný Obr. 23, ale na rodové úrovni?

Závěrem konstatuji, že dizertační práce jednoznačně poukazuje na autorčinu schopnost samostatné a kvalitní odborné práce v oblasti výzkumu a vývoje a že autorka v předložené práci splnila vytčené cíle. Získané výsledky považuji za přínosné pro další rozvoj poznání v oblasti environmentální mikrobiologie. **Dizertační práci celkově hodnotím jako velmi zdařilou a kvalitní a doporučuji ji přijmout k obhajobě.**

V Praze dne 29. srpna 2016



doc. Ing. Ondřej Uhlík, Ph.D.