

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci

Disertační práce ing. **Evy Hlavoňové** na téma

“Studium produkce a vlastností vybraných bakteriálních exopolymérů“

byla vypracována na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně pod vedením doc. RNDr. Jana Růžičky, Ph.D.

Předložená disertační práce je netradičně rozčleněna do čtyř základních kapitol - Současný stav řešené problematiky, Cíl práce, Zvolené metody zpracování, Hlavní výsledky a jejich diskuze, které jsou doplněny Závěrem, nastíněním Přínosu pro vědu a praxi a Seznamem použité literatury.

V úvodní kapitole “Současný stav řešené problematiky“ podává kandidátka průřez literárními údaji, které se zabývají problémem produkce extracelulárních polymerů, jejich chemickým složením a vlivem prostředí na intenzitu produkce a funkci, kterou mají při zajišťování životních projevů mikrobiální buňky. Tato část práce je vhodně rozdělena na část pojednávající o extracelulárních polymerech sacharidové a bílkovinné povahy, produkci extracelulární DNA a krátkou zmínkou o bytění aktivovaného kalu. Tato část práce je zpracována se značným přehledem, doloženým značným počtem závěrů z původních vědeckých prací. Kladem této části práce je poměrně dobrá čeština, což nelze konstatovat u řady jiných prací. Přes řadu kladů bych měl k teoretickému úvodu několik poznámek. Poněkud odvážné tvrzení je na str. 13. ... ECP jsou produkovány na povrchu buněk. Nelze také souhlasit s označením ...organismy skupiny *Archea* – správně zástupci domény *Archaea* (str. 13). Podobně také označení plísň je používáno v populární literatuře – vhodnější je označení mikromycety nebo mikroskopické vláknité houby. Velmi zajímavý je také text na str. 16. ... Obě pseudomonady produkovaly značné množství eDNA..... Netradiční je také spojení ... bakterie trpící substrátovou nedostatečností (str.18). Jak si lze vysvětlit toto tvrzení? Nejasný je také text na str. 20. Celý proces probíhá extracelulárně vně buňky. tak i na pokrytí energetických potřeb tohoto procesu. Jak se energie dostane mimo buňku? Velice zajímavé a originální je také označení tzv. přívěsky (str.21). Jaké je vysvětlení termínu extracelulární biomasa (str.24).

Celkově je možné říci, že úvodní kapitola je psána jasným a věcným stylem.

V kapitole “Cíl práce“ autorka nepřiliš přesvědčivým způsobem naznačuje řešení zvolené problematiky. Možná by bylo vhodnější použít taxativního členění do jednotlivých kroků. Potom by odpadly i věty typu : Cílem bylo tyto dvě kultury popsat, prostudovat jejich základní morfologické, růstové a biochemické vlastnosti

Za úvodní kapitolou následuje kapitola “Zvolené metody zpracování“ věnovaná popisu přístrojů, materiálu, medií a metod použitých v práci. Tato kapitola je uspořádána přehledně a úsporně, pouze mám dojem že podle metodiky zde uvedené by čtenář bez větších zkušeností nepřipravil řadu medií a roztoků : např. Destilovaná voda s 1% etanolu – k 9,9 ml destilované vody bylo přidáno 0,1 ml ethanolu (str.28) ; medium vytvořeno přefiltrováním (filtr s červenou páskou) - str. 32. Nevhodný je termín suspendace (podle slovníku – odvolání z funkce).

Druhou nejrozsáhlejší kapitolu představuje netradičně pojmenovaná “Hlavní výsledky a jejich diskuze“, kde na 44 stranách s 32 tabulkami a 30 obrázky, jsou shrnuty výsledky a komentovány údaje, ke kterým kandidátka ve své práci dospěla. Vzhledem k tomu, že byly řešeny dva problémy, je i členění této kapitoly tomu podřízeno.

V první části jsou popisovány „ Výsledky získané zkoumáním kultury PR“. Je komentována izolace a testy, které popisují růstové vlastnosti studovaného kmene a logicky končí identifikací. Autorka na základě analýzy 16S rDNA a fyziologických vlastností rozhoduje, že studovaným kmenem je *Leuconostoc garlicum*. Toto je velice odvážné tvrzení, protože téměř shodnou podobnost (-1%)

vykazuje i *Leuconostoc lactis*. Mimo to hodnoty v Tab. 17. ve vazbě na výsledky uvedené na Obr. 11. opravňují autorku pouze k označení kmene PR jako *Leuconostoc* sp.

Za touto částí následuje kapitola „4.1.5 Diskuze výsledků“. Pod tímto pojmem bych si představoval porovnání výsledků autorky s výsledky jiných autorů. Avšak na 19 stranách textu je možné nalézt pouze 9 citací autorů. Zbývající část je věnována uvádění výsledků a komentáři k nim. Třídění i popis tabulek a grafického znázornění je velmi dobrý a svědčí o tom, že autorka si je vědoma hodnot zde prezentovaných. Dobrý dojem poněkud kazí časté používání termínů v laboratorní hantýrce. Naopak kladem je velmi malý počet překlepů.

V následující části „Výsledky získané zkoumáním kultury FR8“ jsou popisovány výsledky získané v experimentech s kmenem FR8. Poněkud zarážející je identifikace experimentálního kmene FR8, kdy jedna laboratoř uvádí *Pseudoxanthomonas* sp. a druhá pak *Pseudoxanthomonas mexicana* (str. 76 respektive 79). Jak byl tedy používaný organizmus identifikován. Poté následuje kapitola „4.2.4. Diskuze výsledků s odbornou literaturou“, kdy na 15 stranách jsou opět prezentovány získané výsledky. Uvedeno je pouze 10 autorů prací, přičemž většina z citovaných prací je vzpomínána v metodické části kapitoly. Autorka v této podkapitole popisuje izolaci a charakteristiku získaného exopolymeru bílkovinné povahy. Po provedení SDS PAGE autorka předpokládá, že do prostředí jsou buňkou uvolňovány nejméně 3 typy proteinů. Byla provedena kontrola, že skutečně identifikované proužky jsou secernované proteiny a ne pouze bílkoviny kultivačního prostředí.

Kapitola „Závěr“ slouží autorce ke shrnutí dosažených výsledků. Text je striktní a jasně formuluje závěry z provedených experimentů. Na tyto závěry navazuje „Přínos práce pro praxi“, kde se autorka pokouší naznačit možné využití extracelulárních polymerů ať již jde o polymery bílkovinné či polysacharidové povahy.

Přehled citované literatury v předložené práci je uveden v kapitole „Seznam použité literatury“. Počet 119 citací svědčí o tom, že kandidátka má dostatečný přehled o stavu řešené problematiky na řadě pracovišť.

Na autorku bych měl ještě následující dotazy:

- co znamená téměř lineární polysacharid
- co to je intenzita centrifugace
- jak si vysvětlujete odlišnou vzdálenost proužků SDS po barvení Ag a Coomassie Brilliant Blue v jednom běhu.

Závěrem je možné konstatovat, že předložená disertační práce je zpracována na dobré odborné úrovni. Zpracování tématu vyžadovalo zvládnutí řady metod a především kultivace mikroorganismů byla velmi časově náročná. Široký přehled o literatuře spolu s kombinačními schopnostmi a pracovitostí autorky daly vznik kvalitní odborné práci, která přinesla významné skutečnosti do procesu poznání extracelulárních polymerů. Uvedené připomínky nikterak neubírají na kvalitě práce, spíše naopak.

Jsem přesvědčen, že kandidátka ing. Eva Hlavoňová předloženou disertační práci prokázala schopnost samostatné odborné práce v oblasti výzkumu a vyhovuje tak požadavkům §47, odst. 4 zákona č.111/1998 Sb. O vysokých školách a proto doporučuji práci přijmout k obhajobě.

V Brně 13. 5. 2011

Doc.RNDr. Miroslav Němec, CSc.