

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Iva Dolinová

Mgr. Iva Dolinová vypracovala na Fakultě mechaniky, informatiky a mezioborových studií Technické univerzity v Liberci disertační práci s názvem "**Sanační technologie s využitím molekulárně-genetických analýz**".

Klasicky sepsaná disertační práce přináší velmi zajímavé výsledky, ačkoliv doktorandka mohla předložit doktorkou práci ze svých svázaných publikovaných vědeckých článků. O tom svědčí skutečnost, že od roku 2015 do roku 2017 včetně publikovala jako autorka 2 práce v *Chemosphere* a *Environmental Science and Pollution Research*, a jako spoluautorka 6 vědeckých prací uveřejněných v časopisech s vysokým IF. S těmito pracemi doktorandka dosáhla HI 3. Vědecký záběr doktorandky je atypicky rozsáhlý od výzkumu Parkinsonovy nemoci až po mikrobiální degradaci chlorovaných nízkomolekulárních alifatických uhlovodíků. A právě z této oblasti je sepsaná předkládaná disertační práce. Úvodních 36 stran shrnuje současný stav poznání. Použitá literatura byla úzce vybrána na chlorované etheny. V tomto směru byla literatura dobře vybrána a pěkně zpracována do přehledných tabulek. Chybí mě obecnější úvod, protože diverzita chlorované sloučeniny je značná a jsou tvořeny v přirozeném koloběhu Cl v přírodě. Výzkum bioremediace chlorovaných sloučenin je oblíbeným tématem. Tento výzkum rozvinula Prof. Martina Macková na VŠCHT v Praze a předložená doktorská práce tento výzkum plnohodnotně dál rozvíjí.

Celá práce je atypicky rozdělena do tří samostatných oddílů, obsahující metodiku, výsledky s diskuzí a závěr.

Autorkou popsána experimentální část a představené výsledky s diskuzí vycházejí z dobře definovaných cílů disertační práce. Předložená práce přináší soubor výsledků, které objasňují bioremediační procesy chlorovaných ethenů. Vysoce pak hodnotím poslední třetí část prezentující výsledky o vývoji nanovláken k analýzám podzemní vody.

K disertační práci mám připomínku pouze formálního charakteru.

- Autorky představuje opravdu zajímavé výsledky zpracované do řady grafů, které oponent ale musel studovat s lupou v ruce.

Na autora mám pouze dvě otázky vycházející z obecnějšího pohledu:

- Mohla by autorka uvést několik různých typů degradačních produktů chlorovaných sloučenin, které vnikají jak přírodními procesy, tak degradační antropogenními sloučenin.
- Půda je velmi heterogenní substrát. Jak problematické by bylo využití nanovláken k analýze tohoto substrátu?

Mgr. Iva Dolinová prokázala schopnost a připravenost k samostatné činnosti v oblasti výzkumu a vývoje podle § 47, odst. 4, zákona č.111/1998 Sb. **Doporučuji proto, aby práce byla přijata k obhajobě, jako podklad pro udělení titulu Ph.D.**

V Praze dne 25. 9. 2018

doc. Ing. Milan Pavlík, CSc.





Oponentský posudek doktorské disertační práce **Mgr. Ivy Dolinové**
„Molecular biology tools for diagnostic of ongoing remediations“

Disertační práce je zaměřena na posouzení vhodnosti vybraných biologických nástrojů pro hodnocení vlivu remediačních technik na biodiverzitu životního prostředí. Práce se zabývá problematikou sanací chlorovaných uhlovodíků, které společně s ropnými látkami představují nejčastější organické kontaminace v podzemních vodách. Znamenají velký ekologický problém, jelikož jsou ve vodě málo, ale dostatečně rozpustné, aby mohly být podzemní vodou odnášeny do velkých vzdáleností od zdroje kontaminace a ohrožovat ekosystémy i zdraví lidí. Jejich životnost v prostředí se může pohybovat v řádu desítek až stovek let a závisí například na rychlosti proudění podzemní vody a na jejich rozpustnosti. Vybrané molekulárně-biologické metody uvedené v této práci mohou vysvětlit procesy, které se dějí při použití chemických a biologických sanačních postupů, které jsou nejčastěji využívány při odstranění těchto kontaminantů. V druhé části práce se autorka zaměřila na popis a přípravu nanovláknenných nosičů pro odběry vzorků podzemních vod právě pro molekulárně – biologické metody hodnocení změny diverzity mikroorganismů.

Disertaci z hlediska obsahu hodnotím jako přiměřenou a vyváženou. Ze 106 stran je 36 stran věnováno dobře zpracovanému a čtivému úvodu o současném stavu řešené problematiky. Jednotlivé části disertační práce jsou rozděleny do kapitol zaměřených na oblast biodegradace chlorovaných uhlovodíků, zde jsou popsány aerobní i anaerobní metabolismy včetně příkladů bakteriálních rodů, schopných degradace, v další části jsou jednoduchým způsobem představeny molekulárně – biologické metody jako je qPCR, sekvenování nové generace nebo analýzy amplifikace genu 16S rRNA, včetně uvedení možností grafického znázornění změn mikrobiální diverzity. Poslední kapitola pouze na 4 stranách seznamuje čtenáře s problematikou nanovláknenných nosičů, kterým je však ve výsledcích věnována větší pozornost.

Metodická část je rozdělena na tři části, kdy první dvě jsou více zaměřeny na experimenty popisující sanační procesy a jejich hodnocení nejen po stránce fyzikálně - chemických parametrů, ale také z hlediska vlivu na bakteriální populaci. Jsou shrnuty na 66 stranách a jsou diskutovány ve světle údajů zahraničních prací. Tyto výsledky byly publikovány v impaktovaných časopisech (Environmental Science and Pollution Research, IF 2,8 a Chemosphere IF 4,43). Třetí část experimentální části velmi podrobně popisuje aplikace nanovláknenných nosičů pro monitoring a diagnostiku biomasy v prostředí kontaminované lokality. Zde je třeba se zmínit, že výsledky vedly k patentovému nároku.

Výsledky provedených experimentů jsou zpracovány formou grafů, sloupcových diagramů a tabulek. Jednotlivé kapitoly výsledků jsou diskutovány v kontextu relevantních údajů z literatury. Bohatý seznam použité literatury zahrnuje cca 243 položek.

Zaměření disertace, její provedení a vyhodnocení považuji za velmi cenné a přínosné.

Za jednu z hlavních předností považuji prioritně to, že disertantka uplatnila komplexnější pohled na problematiku, než bývá obvyklé, protože mohla svoje úvahy o změně diverzity v průběhu sanačních postupů podepřít originálními výsledky, které byly získány unikátním způsobem pomocí připravených nosičů. Práce přináší nové vědní poznatky a bude jistě dobře přijata i vědeckou komunitou, zabývající se problematikou mikrobiální diverzity. Práce tohoto typu dle mého soudu zde doposud chyběla.

Mgr. Iva Dolinová splnila zadání disertační práce beze zbytku a o kvalitě jejích výsledků není sporu. Své výsledky prezentovala na seminářích doma i v zahraničí formou přednášek nebo posterů. Je autorkou tří vědeckých impaktovaných publikací jako první autor a spoluautorkou dalších čtyř v in/neimpaktovaných časopisech a členkou řešitelských týmů několika českých i zahraničních projektů.

Práce je psána dobrou angličtinou s minimálním množstvím formálních chyb.

V teoretické části bych z formálního hlediska vytkla:

Fig. 1 a další - doporučuji pro přehlednost uvádět vysvětlení zkratk i u obrázků, nejen v seznamu zkratk

Fig. 2 - *Geobacter*

Metodická část a její formální nedostatky:

Str. 42 - není uvedena koncentrace DNA pro experiment.

Z práce vyplývá několik otázek do diskuze:

Teoretická část

Vysvětlíte význam použití CFE – cell free extract (Tab. 1 a 3) v kontextu. Jak by se mohl používat a jaké má výhody proti použití čistých nebo směsných kultur?

Kde byly vzorky pro sekvenování zpracovávány a jaké jsou výhody přístroje Ion Torrent?

Kap. 1

Jak byla stanovována chemická spotřeba kyslíku?

Proč bylo použito tak malé množství peroxidu vodíku v experimentu v kap. 1 v experimentální části?

Uvádíte, že se běžně používá 10 více.

Jak si zdůvodníte nízký stupeň dechlorinace v pokusu s peroxidem vodíku (str. 45)?

Kap. 2

Zde bych hodnotila opravdu velmi pěkné výsledky odpovídající stavu sledované oblasti. Má nějaké vysvětlení zvyšující se % abundance *Proteobacteria* v závislosti na m bgl. (obr. 6, str. 68), a u kterých z rodů došlo k nejvyššímu nárůstu?

Kap. 3

Tato kapitola je vyvrcholením celé práce, vinout nosiče nanovláken pro mikrobiální biomasu určené pro opakované použití a pro krátkodobé a dlouhodobé sledování kontaminovaných lokalit je unikátním řešením pro možnost sledování mikrobiální populace bez preferenčního růstu mikroorganismů v těžce zpracovatelných vzorcích.

Na ose y na obr. 17 str. 93 je uvedeno množství čeho? Byla tato data zpracována statisticky, z kolika byla paralel?

Disertační práce Mgr. Ivy Dolinové přináší řadu výsledků, její cíle byly splněny a jmenovaná prokázala svoji schopnost vědecky pracovat. Předloženou disertační práci, která splňuje podmínky podle § 47, odst. 4 zákona č.111/1998 Sb., o vysokých školách, tedy **doporučuji k obhajobě** komisi jako podklad pro udělení titulu Ph.D.

V Praze dne 14. 10. 2018

Doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.

