

## Oponentský posudek na bakalářskou práci Artema Kriuchkova „Taxonomická identifikace toxických lipopeptidů ve vodním květu sinic“.

Předkládaná bakalářská práce si předsevzala za cíl identifikovat producenty potencionálně toxických lipopeptidů v planktonních společenstvech sinic tvořících vodní květ, přičemž jako vzorkování nádrže byly zvoleny rybníky Třeboňské pánve. Tohoto hlavního cíle bylo dosaženo a uchazeč úspěšně identifikoval pomocí izolace jednotlivých kolonií/vláken a následnou PCR detekcí kmeny *Aphanizomenon gracille* jako producenty těchto lipopeptidů. Práce obsahuje všechny formální náležitosti. Jednotlivé kapitoly (úvod, metodika, výsledky a diskuze) jsou srozumitelně pojaty s dostatečným množstvím metodických detailů odpovídající požadavkům na případnou reprodukovatelnost. Dostatečné množství odkazů na aktuální literaturu, dokazuje autorovu orientaci v problematice. Text obsahuje poměrně malé množství gramatických nesrovnalostí a překlepů, což je vzhledem k faktu a uchazeč není roditel mluví obdivuhodné.

Přesto text obsahuje několik formálních nedostatků a neúplných/nepřesných formulací zejména v kapitolách úvodu a výsledků:

- Na straně 3 autor píše, že: Z chemického hlediska můžeme toxiny produkované cyanotoxiny klasifikovat zejména jako rozmanité druhy peptidů (včetně lipopeptidů) a alkaloidů. Jedná se o nepřesné tvrzení, zatímco různé peptidy jsou opravdu asi nejpočetnější skupinou sinicových metabolitů, alkaloidy (ačkoliv toxikologicky důležité) nejsou v sinicích příliš časté například oproti polyketonům a nebo heterocyklickým sloučeninám nealkaloidního charakteru.
- Strana 4: Jednotlivé molekuly lipopeptidů nebo jejich micelární struktury následně mohou tvořit póry v membránách, kudy pak unikají vápenaté ionty. Jedná se opět o nepřesné tvrzení, jelikož vznikajícím póry uniká celá řada důležitých iontů (např. v případě působení daptomycinu je pravděpodobně nejdůležitější draselný ion) a je otázkou nakolik jsou póry iontově specifické.
- V kapitole „1.2.2.4 sinicové lipopeptidy“ se výhradně mluví o cyklických lipopeptidech, což vzhledem k zaměření práce je logické. Myslím si ale, že by to na tomto místě (a často i na jiných místech práce) mělo být specifikováno, že se jedná o podskupinu cyklických lipopeptidů, jelikož sinice produkují též lipopeptidy lineární.
- Kapitola věnovaná biosyntéze puwainaphycinů (1.2.2.4e) měla za cíl popsat biosyntézu těchto látek obecně. Text v úvodní části (aktivace mastné kyseliny) a v posledním odstavci kapitoly (modifikace mastné kyseliny) toto splňuje. Co se ale týká aktivace aminokyselin se text omezuje pouze na průběh syntézy pro puwainaphycin F/G a variabilita u ostatních typů je opomenuta. Také obrázek zobrazuje též pouze syntézu puwainaphycin F/G.
- Několikrát jsem v textu narazil na nesprávně použitou citaci (např. strana 10 - je uveden Cheel et al. 2018 má být citováno Tomek et al. 2015; strana 12 – má být citováno Vašíček et al. 2020 nikoliv Hrouzek, 2020)
- V obrázcích Obr. 17, 18, 23 ukazující gelu PCR produktů *puw F* není uvedeno označení vzorků (resp. je uvedeno pouze u pozitivních), zatímco v ostatních obrázcích uvedeno je. K těmto obrázkům bych se ještě rád zeptal co je důvodem tak špatné viditelnosti ladderu v Obr. 21-28 oproti (Obr. 17-18)? Přestože je z výsledků jasné, že produkty mají kýženou velikost a bylo to dokázaného i osekvenováním produktu, v některých obrázcích je ladder spíš tušit než vidět.



Chci dodat, že tyto veskrze formální námitky by neměly snížit kvalitu odvedené práce, která vedla k zajímavým výsledkům. Oproti těmto formálním nedostatkům stojí naopak velmi logické zdůvodnění celého postupu práce a kvalitní interpretace výsledků a velmi pěkně popsaná, provedená a okomentovaná fylogenetická analýza. Také diskuzní část dostatečně shrnuje a komentuje výsledky a navrhuje směr, jakým by se měl výzkum dále ubírat.

K práci mám v obecné rovině následující dotazy:

- Hlavním potvrzeným producentem puwainaphycinů ve studovaných vzorcích byl *Aphanizomennon gracille*. Z hlediska případné toxikologické relevance je tedy velmi důležité, jak často a do jaké míry tato sinice vytváří v planktonu Třeboňských rybníků dominantu. Z práce vím, že studované lokality byly vybrány v druhém kole kvůli časté přítomnosti této sinice na základě předešlých odběrů. Dalo by se z publikovaných dat či z monitorovacích dat (např. Povodí Vltavy) říci, jak často tvoří tento druh dominantu a zda-li se jedná o pravidelně se opakující výskyt. Pokud ano, moc bych stál o odprezentování takovýchto dat (alespoň) v nějaké formě během obhajoby.
- Jaké další metody (vyjma PCR) by umožnili identifikaci producentů těchto lipopeptidů přírodních komplexních společenstevch.
- Na konci diskuze autor píše, že je nutné zjistit, jaké jsou reálné koncentrace puwainaphycinu v biomase sinic a popřípadě rozpuštěných puwainaphycinů ve vodě. S tímto naprosto souhlasím a opravdu by takováto studie byla velmi přínosná. Na základě povahy těchto látek jakou distribuci by podle autora měli tyto látky mít a jak by přistoupil k řešení této problematiky.

**Závěrem bych rád konstatoval, že dle mého názoru práce splňuje všechny formální náležitosti. Jelikož práce vedla o získání předsevzatých výsledků, jež jsou navíc prezentovány adekvátní formou, navrhuji ohodnocení výborně.**

V Třeboni 14. Května 2021

Pavel Hrouzek