

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Elišky Hořejší „Osmoprotectants in two strains of Cyanobacteria: *Synechocystis* cf. *salina* (NaCl) and *Arthronema africanum* (MgSO₄)“

Eliščina diplomová práce má několik velmi pozitivních stránek – mezi nejvýraznější patří pečlivá angličtina s minimálním množstvím chyb a překlepů. Autorka se rovněž při vytváření práce seznámila s moderními metodikami výzkumu sinic. Má (pro oponenta) příjemný textový rozsah a seznam literatury svědčí o solidní teoretické přípravě. Avšak od chválení je tu školitel, oponent by měl hledat mouchy. Hledal jsem – i našel. Ovšem jakožto oponent náhodně vybraný netvrdím vždycky, že se jedná o chyby: jedná se o věci, které považuji spíše za nejasné a žádám o vysvětlení.

1. Práce má rozumě rozsáhlý a srozumitelně napsaný teoretický úvod, byť i cíle práce jsou poněkud excentricky umístěny hned na začátek. Co k tomu autorku vedlo? Mohla by autorka blíže vysvětlit cíl II. ? Metody extrakce etc. osmoprotektantů zejména v prostředí NaCl jsou dle mého názoru rutinní záležitosti.

2. Rovněž mi není jasné, proč autorka napsala krátký úvod do problematiky osmoprotektantů v prostředí MgSO₄ až do diskuze, v úvodu chybí, ačkoliv jsou evidentně zajímavější než věčně zkoumané NaCl-protektanty.

3. V kapitole II/1. není nijak zdůvodněno, proč byly vybrány zrovna tyto dva kmene - posléze jsem jakousi zmínku našel v diskuzi, ale možná že by bylo vhodnější hned od začátku vědět proč jsem dělal experiment zrovna s těmito organizmy.

4. U laboratorní práce bych očekával trochu více propracovanou metodiku opakování. Popisované opakování u měření na sérologických destičkách bych spíše označil za pseudoreplikace. Evidentně se nejedná o opakované nezávislé pokusy, ale o opakované měření téhož. To testuje kvalitu měřicího přístroje víc než testovaný organizmus. Může autorka vysvětlit, proč nebyla opakována měření množství osmoprotektantů? Dvouletá doba na magisterskou práci mi nepřijde jako „insufficient time“, nota bene když práce využívá značně výsledky bakalářské práce.

5. Proč autorka při studiu morfologie *A. africanum* vzorek nejprve fixovala?

6. Podle jakého klíče autorka rozdělovala obrázky a grafy vhodné do textu a vhodné do přílohy? (Fig. 1 v textu, Fig. 1a a 1b v příloze....)

7. Diskuze na str. 29 na mě zanechala dojem, že jedním z cílů práce bylo ověřit, jestli všichni si ti autoři, kteří o NaCl- osmoprotektantech psali, nevymýšleli. Všechny tyto výsledky, jak autorka uvádí, odpovídají již mnohokrát popsáním. Já rozumím tomu, že je to vždycky potěšitelné, mít výsledky snadno interpretovatelné, ale může autorka vysvětlit, proč tedy konat znova tyto pokusy?

8. Nejsm si jistý, zda je možno na základě pokusu na jednom kmene říkat, že byla stanovena optimální koncentrace pro *Arthronema africanum* nebo osmoprotektanty k *Synechocystis* cf. *salina* – obávám se, že je nutno výsledky vztáhnout ke konkrétnímu testovanému kmenu, ne celému druhu.

9. Některé věci bych zcela vypustil: například tabulka II. je zbytečná, složení nejběžnějšího média na pěstování sinic bohatě stačí citovat jen odkazem. Rovněž tak na straně 9. je přepočítání koncentrace na molaritu roztoku – to se mi zdá vhodnější do protokolu ze cvičení z chemie pro střední školy než do diplomové práce. Co vedlo autorku k tomu, aby to sem napsala?

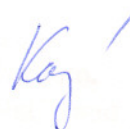
Drobné poznámky bez vážného významu:

- název práce je poněkud zavádějící, vypadá to, jako by si autorka myslela, že druhy neplatně popsali pánové NaCl a MgSO₄.

- uvádění názvu třeboňské sbírky ve formě „CCALA culture collection“ je trochu úsměvné, už ta zkratka znamená Culture Collection of Algal Laboratory.
- proč autorka pokaždé, když v názvu podkapitol použije název kmene, dá do druhého řádku nadpisu do závorky lokalitu, odkud je kmen izolován ?

Práci po přečtení hodnotím stupněm velmi dobře, ale jsem připraven si v závislosti na průběhu obhajoby změnit názor – doufejme, že k lepšímu.

Jan Kaštovský



Oponentský posudek magisterské práce Elišky Hořejší „Osmoprotectants in two strains of Cyanobacteria“ *Synechocystis* c.f. *salina* (NaCl) and *Arthonema africanum* (MgSO₄)“

Tématem této magisterské diplomové práce bylo především studium kultivačních podmínek, které vyvolávají produkci osmoprotektantů u dvou kmenů sinic a metod jejich extrakce, detekce a identifikace. Tyto tzv. „compatible solutes“ tzn. látky, které zajišťují osmotickou rovnováhu mezi obsahem buňky a vnějším prostředím, jsou různé chemické povahy, např. cukry, aminokyseliny, metylaminy, aj. Chrání organismy proti hyperosmotickému šoku a mohou být významné i z hlediska biotechnologického pro využití v kosmetice, farmakologii a zemědělství. Tato práce se věnuje studiu osmoprotektantů v buňkách halotolerantních sinic. Pokusná část práce byla zaměřena především na kultivaci kmenů sinic, které vedlo k nalezení vhodných podmínek pro produkci osmoprotektantů a následně jejich identifikaci metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí. (HPLC/MS). Klasická kultivace v nádobách zde byla nahrazena mikrostanovením růstu sinic za přítomnosti vhodných koncentrací osmolytů NaCl a MgSO₄ v serologických destičkách, která byla vyvinuta na pracovišti Botanického ústavu AVČR v Třeboni. Tato magisterská práce navazuje na bakalářskou práci autorky z r. 2005 a tématicky zapadá do pracovní náplně skupiny Dr. Kopeckého z Mikrobiologického ústavu AVČR v Třeboni, která zahrnuje výzkum bioaktivních látek sinic a řas.

Práce má dobrou grafickou úpravu, je přehledná s obvyklou strukturou diplomových prací: obsah, cíle, přehled současných poznatků, materiál a metody, výsledky, diskuse, závěry a přehled literatury. Součástí práce jsou i dodatky. Obsahuje 45 stran textu, včetně 28 obrázků a 2 tabulek. Práce má dobrý literární úvod a přehled literatury, obsahuje velké množství výsledků, které jsou celkem logicky uspořádané a je patrné, že se nedala uvést kompletní řada „screeningových“ pokusů. Většina obrázků jsou vlastní výsledky autorky. V dodatcích jsou některé obrázky (Fig. IV) a tabulky (Tab. I), které mohly být zařazeny v odpovídající části textu. Cíle práce jsou formulovány velmi dobře a závěry jim celkem výstižně odpovídají. Velmi jsem ocenil, že práce byla napsána anglicky, v případě magisterské práce na relativně dobré úrovni, i když v některých částech by se text dal výrazně zhustit. Případné uveřejnění v odborném časopise by vyžadovalo pozornou úpravu textu.

Obecná doporučení:

1. Pro čtenáře je vhodné uvést seznam zkratk.
2. Části práce měly být číslovány v několika úrovních arabskými čísly, např. 1.2, spíše než kombinací římských a arabských číslic, např. I.2, atd.
3. Některé důležité citované práce nejsou v seznamu literatury, např. Lukavský 1992, Roujíčková et al. 1998, Lukavský a Simmer 2001, aj.
4. Při uvádění hodnot se v angličtině píše vždy desetinná tečka; u jednotek je nutné používat v textu i v grafech jednotný systém, spíše s násobky v exponentu, např. 1000 μmol fotonů m⁻² s⁻¹ než 1000 μmol fotonů/m² s¹.

Konkrétní dotazy pro autora:

1. V práci je zmínka o kyselině abscisové (ABA) u sinic. Víte, zda se vyskytuje i ve vyšších rostlinách a k čemu obecně slouží?
2. Proč jste se zaměřila na toleranci vůči zvýšené koncentraci MgSO₄, a mají-li tyto pokusy ekofyziologický význam?

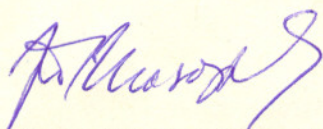
3. Požádal bych o krátkou úvahu o tom, zda je výskyt jednotlivých osmoprotektantů odlišný za různých podmínek, např. různých solí.

Závěr

Významným přínosem této magisterské práce bylo nalezení vhodných kultivačních podmínek pro dva kmeny sinic, které produkují identifikované osmoprotektanty – sacharosu/trehalosu, glukosyl glycerol, glycin betain. Další cenný výsledek práce představuje identifikace acetylserinu u sinice *Arthronema*, který slouží také jako osmoprotektant. Byla nalezena i zatím neidentifikovaná látka s MH 198, která má pravděpodobně osmoprotektivní funkci.

Předložená magisterská práce prokazuje, že autorka dobře zvládla základní magisterské studium a měla by pokračovat doktorandským studiem.

Magisterskou práci Elišky Hořejší proto doporučuji k obhajobě a v souhrnu ji hodnotím jako výbornou.



Doc. RNDr. Jiří Masojídek, CSc.

V Třeboni 22.5.2007