

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci

Vliv methoprenu – analogu juvenilního hormonu na účinky adipokinetického hormonu Pyrap-AKH u bavlíkového škůdce *Dysdercus cingulatus*.

autorka: Bc. Markéta Patočková

vedoucí práce: Doc. RNDr. Dalibor Kodrík, CSc.

oponent: Doc. Ing. Vladimír Košťál, CSc.

Předložená práce má 35 stran textu, členěného do obvyklých kapitol. V textu je vloženo 21 obrázků, většinou dokumentujících výsledky experimentů. Gramatických prohrěšků je velmi málo a mají spíše charakter drobných nedostatků ve větném slohu a stylistice. Celkově je ovšem práce sepsána srozumitelně a místy, například v kapitole Úvod, také poměrně svěže a erudovaně. Po formální stránce nemám žádnou zásadní výtku.

Téma práce vychází z dlouhodobého zaměření výzkumu v laboratoři školitele. Studium vzájemného působení různých hormonů na fyziologické pochody v organismu je nejen zajímavé, ale jistě i slibné z hlediska možných aplikací. Konkrétní případ interakce mezi methoprenem a adipokinetickým hormonem u hmyzího modelu je originálním příkladem tohoto výzkumného směru.

Šesti-stránkový Úvod je velmi dobře zvládnutou částí práce. Zejména pasáž o adipokinetických hormonech svědčí o tom, že autorka se v této oblasti dobře orientuje a dokáže pracovat s literárními údaji. Mám jen jedinou doplňující otázku:

1. Fyziologické účinky adipokinetických hormonů hmyzu připomínají účinky glukagonu u savců. Existuje nějaká strukturní homologie mezi těmito dvěma polypeptidy? Rovněž signalizační dráhy obou hormonů (přes G protein, adenylát cyklázu a protein kinázu) jsou shodné, což nasvědčuje funkční příbuznosti jejich receptorů. Receptor glukagonu je znám. Víme něco o receptorech AKH?

Kapitola Materiál a Metodika (na 7 stránkách) dostatečně podrobně popisuje použité metody. Je třeba vyzdvihnout, že metodická škála práce je poměrně široká, zahrnující jak různá fyziologická a biochemická stanovení, tak také náročnou metodu izolace, čištění a kvantifikace AKH. Připomínky k této části práce:

2. Ploštice byly chovány za fotoperiody 18 hodin světla : 6 hodin tmy. Vzhledem k tropickému původu tohoto druhu se takto dlouhá fotofáze jeví jako "nepřirozená". Je nějaký zvláštní důvod pro použití právě této fotoperiody?
3. Použití ploštic pro pokusy na základě jejich jednotného stáří je v pořádku. Jednalo se ale o samice, které procházejí pravidelným cyklem zrání vajec a kladení. Optimální by bylo používat samice ve shodné fázi tohoto cyklu, popřípadě studovat změny v průběhu cyklu. Jinak se cyklus stává významným zdrojem variability výsledků.
4. Byly z hemolymfy odstraňovány buňky (hemocyty, adipocyty) před fosfovanilínovými testy a před separací jednotlivých frakcí lipoforinů?

Výsledky (na 8 stránkách) jsou rozděleny do 4 podkapitol. Prezentace pomocí sloupcových diagramů je vždy doplněna stručným komentářem. Kapitola působí logicky a přehledně. Mám následující otázky:

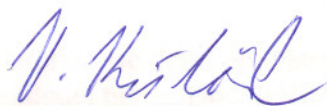
5. Pro posouzení vlivu methoprenu na kvantitu AKH v mozku a hemolymfě by bylo potřeba uvést také výchozí hodnoty u nijak neošetřených ploštic. Ačkoli v obrázcích jsou vždy "kontroly", tyto se vztahují již k plošticím, které byly ošetřeny "blankem", tedy injekcí metanolového Ringerova roztoku. Zdá se, že injekce blanku sama o sobě mírně zvyšovala množství AKH v mozku (?). Vliv methoprenu na množství je velmi zřetelný, ale nelze rozhodnout, zda jde o inhibici syntézy, výdeje nebo obojího nebo naopak o stimulaci degradace, či o jakoukoli kombinaci vlivů.
6. Zdá se, že statistickým testem byl zjišťován rozdíl vždy mezi methoprenem- a blankem-ošetřenými plošticemi. Je to sice možné, ale logicky správnější by bylo hledat rozdíly mezi výchozím stavem a stavem po ošetření. Tato poznámka platí pro většinu obrázků.
7. Jsou popisky osy y u obrázků č. 11 – 14 správné? Je na osách vyneseno absolutní množství nebo, jak popisek napovídá, změna množství?
8. Výsledky pokusů na zjištění vlivu methoprenu na mobilizaci tuků (stránky 19, 20) dobře dokumentují obecný problém předložené práce. Experimentální schéma tvoří složitou matici různých faktorů, neboli pokusných "treatmentů": kontrola (bez ošetření), ošetření Ringerem, AKH, methoprenem, bez ligatury nebo s ligaturou, v různém stáří a po různou dobu působení treatmentu. Navíc je tu faktor cyklu zrání a kladení vajec. Jde tedy o silně multifaktoriální pokus. Zdaleka ne všechny kombinace faktorů byly sledovány a kontrolovány. I proto mohou být výsledky variabilní a nesnadno interpretovatelné.
9. Podobně je tomu u výsledků týkajících se vlivu methoprenu na stimulaci produkce CO_2 . Chybí údaje o produkci CO_2 u nijak neošetřených samic a také u samic ošetřených pouze acetonem. Zdá se, že aceton sám o sobě mírně stimuluje produkci CO_2 (?).
10. Je pozorované zvýšení produkce CO_2 po aplikaci AKH výsledkem zvýšení pohybové aktivity nebo pouze zvýšení rychlosti metabolismu bez pohybu?
11. Výsledky týkající se lipoforinů jsou velmi předběžné, takže je ponechávám bez komentáře.

Čtyř-stránková diskuse je pojata formou širšího komentáře k získaným výsledkům. Některé výsledky rovněž porovnávají s výsledky paralelní studie na příbuzném druhu ploštice, *Pyrrhocoris apterus*.

Závěry na poslední straně (a také v anglickém souhrnu) by mohly být formulovány místy opatrněji. Ačkoli se z výsledků práce zdá být zřejmé, že adipokinetický hormon a methopren působí antagonisticky, nelze prozatím uzavřít, že by byla například prokázána přímá inhibice biosyntézy nebo sekrece AKH methoprenem.

Můj celkový dojem z práce je velmi kladný. Oceňuji zejména dobrou formální stránku a logickou strukturu celé studie. Téma práce není jednoduché, přesto je cítit, že autorka jasně pochopila širší rámec zadání. Autorka také evidentně zvládla celou řadu

složitých metodických přístupů. Předložená magisterská diplomová práce splňuje formální i obsahové požadavky a proto ji doporučuji jako kvalitní podklad k obhajobě.



Vladimír Košťál

v Českých Budějovicích, dne 17.5. 2006

Oponentský posudek na magisterskou práci Markéty Patočkové:
Vliv methoprenu, analogu juvenilního hormonu na účinky adipokinetického hormonu
Pyrp-AKH u bavlníkového škůdce, *Dysdercus cingulatus*, (Fabr.), (*Heteroptera: Pyrrhocoridae*).

Po stránce obsahové se nedá předložené diplomové práci nic vytknout. Získaná data jsou relevantní k zadanému úkolu s použitím odpovídající metodiky, kterou magistrantka velmi dobře zná. Získaná data byla také správně interpretována a vyhodnocena s použitím standardní statistické metody. Výsledky jsou dobře dokumentovány grafy a obrázky, jakož i citacemi z odborné literatury. Magistrantka použila 57 citací, kromě sedmi publikací na nichž se podílela jako spoluautorka.

Co je ale nutno vytknout je styl vyjadřování a v některých větách i neadekvátní používání některých termínů, které poněkud komolí smysl vět. Na to si bude muset dávat v budoucnu pozor, protože prezentace, ať písemná nebo ústní, je velmi důležitá. Nicméně, navrhuji známku výborně.

V Českých Budějovicích dne 17.5. 2006.

Doc. RNDr. Václav Němec C.Sc.

