

## Oponentský posudek na diplomovou práci

**Název práce: Ověření schopnosti rašeliníkového pektinu inhibovat aktivitu půdních enzymů**

**Autor: Lucie Chroustová**

**Oponent: Petr Čapek**

Úvodem bych rád zmínil, že diplomová práce Lucie Chroustové splňuje všechny formální požadavky kladené na diplomové práce předkládané k obhajobě na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity. Současně bych rád zmínil, že Lucie si vybrala velice složité téma a tuto skutečnost jsem při hodnocení její práce zohlednil.

Celá práce na mě působí dojmem, že Lucie nastudovala velké množství materiálu, odvedla značný kus práce v laboratoři a tématu se snažila porozumět. Nicméně její schopnost srozumitelně prezentovat výsledky své práce psanou formou je omezená. Některá souvětí jsem musel číst opakovaně, abych jejich sdělení dokázal pochopit, a v popisu postupu přidávání jednotlivých reaktantů do jamek mikrodestičky jsem se ztratil úplně. Na druhou stranu je potřeba zmínit, že práce obsahuje minimum překlepů a gramatických chyb.

Úvod obsahuje všechny důležité informace, které jsou nezbytné pro pochopení experimentální části práce, cílů, hypotéz i metodiky. Bohužel nebylo jednoduché tyto informace z masy textu vyextrahovat. Na můj vkus je úvod příliš obecný a poměrně široce zaměřený. Například kompetici mezi rašeliníky a cévnatými rostlinami je věnováno půl stránky úvodu, ačkoliv je zřejmé, že uvedené informace se k cílům práce nijak nevztahují. V mnoha případech jsou uvedené informace zjednodušující, nepřesné, nebo dokonce špatné. To platí především pro kapitulu „3.5 Rozklad organických sloučenin v aerobních půdách“.

Experimentální část práce je zpracována poměrně pečlivě. Nicméně i k té mám několik připomínek. Zmíním se především o statistickém zpracování dat. Je chvályhodné, že se Lucie o statistické hodnocení takto složitých dat pokusila. Použila však lineární metody, které nejsou pro hodnocení implicitně nelineárních dat vhodné. V kapitole „3. 7. Inhibice enzymů“ Lucie popisuje známé typy inhibice. Každý z těchto typů je definován rovnicí, kterou lze ve statistickém hodnocení využít. Vzhledem k tomu, že Lucie měřila enzymatickou aktivitu při různých koncentracích substrátu a inhibitoru, měla by být schopná odhadnout velikost inhibiční konstanty specifické pro jednotlivé inhibitory a s ní posléze pracovat. Výhodou takového postupu je mimo jiné to, že inhibiční konstanta je nezávislá na koncentraci substrátu i inhibitoru a díky tomu se nemusí nadále zohledňovat při statistickém hodnocení. Tím by se značně zjednodušil i popis výsledků. Ovšem patří se dodat, že takové statistické hodnocení dat je za hranicí běžných znalostí studentů magisterského a často i doktorského studia.

Na závěr bych chtěl ještě krátce okomentovat interpretaci získaných dat. Nemyslím si, že Lucie může na základě svých dat tvrdit, že hydrolytické enzymy v rašelině jsou adaptovány na vysokou koncentraci fenolických látek. Pozorovaná absence inhibice enzymatické aktivity ve výluhu z rašelině takovouto interpretaci neumožňuje. Jak naznačuje už graf č. 6, míra inhibice má saturační charakter. Podle informací uvedených v metodické části, byla koncentrace fenolických látek (potenciálních inhibitorů) ve výluhu z rašelině nenulová. Pokud již požadovaná koncentrace byla za hranicí maximální inhibice enzymatické aktivity, další přídavek inhibitoru by již žádnou změnu aktivity nezpůsobil. Dále je potřeba si uvědomit, že výluh z rašelině pravděpodobně neobsahoval jen jeden isoenzym, ale celou řadu isoenzymů a každý z nich mohl mít jinou citlivost vůči inhibitoru.

Na Lucii mám celou řadu otázek, které z časových důvodů omezím na 4, podle mého názoru nejdůležitější.

1. Mohla se po dobu uložení vzorků (1 a 6 měsíců) nějak změnit aktivita extracelulárních enzymů? Pokud ano, jak?
2. Nemohlo během 15 min sonikace dojít k degradaci enzymů?
3. Byly kalibrační standardy připraveny zvlášť pro každou koncentraci inhibitoru?
4. Na stránce č. 31 Lucie uvádí že „U kontrolních variant (bez přídavku inhibitoru) byly enzymatické aktivity čisté celobiohydrolázy zhruba 200× nižší oproti čisté fosfatáze, proto jsou výsledky zatíženy vyšší variabilitou“. Dokázala by Lucie nějakým způsobem zvýšit aktivitu celobiohydrolázy a snížit tak variabilitu?

Diplomovou práci Lucie Chroustové doporučuji k obhajobě a v případě dobré obhajoby jí hodnotím známkou 2.

V Českých Budějovicích 11. 5. 2021

Petr Čapek.