

Posudek na magisterskou práci

Ověření vlivu rozpustných fenolických látek na aktivitu extracelulárních enzymů v rašeliništích

Autor: Bc. Lucie Kovářová

Předkládaná práce se zabývá vlivem fenolických látek na rozklad rašelinného opadu a potažmo na aktivitu oxidativních a hydrolytických enzymů. Hlavní motivací pro práci bylo ověření tzv. teorie „enzymatické smyčky“ publikované v roce 2001 v časopise Nature (Freeman et al. 2001). Úvodní část je velmi dobře napsaná, čtivá bez větších formálních chyb. Občas se v ní objevují nepřesné nebo opakující se pasáže/věty. I přes to je úvodní část kvalitně zpracovaná. Za klíčovou považuji kapitolu 2.4, kde autorka popisuje právě slabiny a nejasnosti „teorie enzymové smyčky“ a již zde uvádí řadu publikací, které teorii zpochybňují nebo přímo vyvracejí.

Velká část metod je velice detailně a jasně popsána, jak samotné odběry a zpracování vzorků rašeliny, tak samotné měření sledovaných parametrů i vlastní návrh experimentů. V popisu metodiky stanovení extracelulárních enzymů jsou nějaké nesrovnalosti, např. chybné vlnové délky při fluorescenčním měření. Nejsou uvedeny koncentrace MUF a AMC substrátů apod. Výsledky jsou prezentovány jednotnou formou sloupcových grafů. Pro lepší přehlednost a pro zdůraznění hlavních trendů bych doporučil vybrat např. pouze některé varianty a zbytek dát do příloh. V grafech je mnoho informací a nejsou zcela přehledné. V některých pasážích (např. kapitola 4.1.1) se hovoří o „variantě s rašeliníkem“, správně by měla být formulace „...v kontrole bez přídavku fenol. látek“ pro snazší orientaci v grafech a lepší propojenost s textem, který graf popisuje. Ve výsledcích jsou také v textu uváděny korelace např. mezi koncentracemi fenol. látek a enzymy nebo měřenými chem. parametry. Pro lepší přehlednost bych doporučil tato data např. prezentovat formou tabulky nebo některé důležité korelace prezentovat formou grafu. V kapitole 4.2.2 by se např. mohl diskutovat vliv přídavku živin (který je i v názvu kapitoly), protože z grafů je vidět, že např. u beta-glukozidázy přídavek živin zvýšil aktivitu u LMW fenol. látek, kdežto u fosfatázy naopak snížil. To mi přijde zajímavé a může to ovlivnit celkovou stechiometrii dostupných forem C a P v rašeliništích např. během sezóny, kdy se mění množství a kvalita exsudátů do rašeliniště. Přídavek zvýšil i produkci CO₂. V grafech je také dvojí značení kontroly, jednou je to „control“ a pak např. LMW 0+. Podle Tab. 2 se tyto varianty mají lišit pouze v přídavku živin. Doporučil bych tedy jednotné značení (např. control a control+). Grafy pak budou přehlednější. Dále pak u přídavku živin chybí varianta LMW 1000+ a HMW 1000+. Zde bych tedy např. tuto variantu

pro přehlednost vynechal. Také bych preferoval označení grafů slovem „Obrázek nebo Obr.“ místo „Graf“.

Celkově si myslím, že je práce kvalitně a logicky zpracovaná a hlavně z důvodu menší přehlednosti výsledků hodnotím práci **velmi dobře**.

Otázky

1. Mohla byste, prosím, ukázat některé vybrané korelace mezi aktivitami enzymů a např. koncentrací fenolických látek? Z výsledků není jasné z kolika bodů byly dělány. Někde se korelace blíží 1, což ukazuje na velmi silnou závislost. Některé korelace jsou naopak velmi slabé (str. 49, korelace fenol. látek s leucinaminopaptidázou $r = 0.23$)
2. Mohla byste vysvětlit, jak přídavek živin ovlivní produkci CO_2 (Graf. 39 a 40)? Proč je produkce CO_2 v anaerobním prostředí mnohem nižší než v aerobním?
3. Jak si vysvětlujete nižší produkci CO_2 prvních cca 10 dní inkubace jak u LMW tak HMW?
4. V kapitole 5.1 na konci uvádíte, že aktivitu oxidativních enzymů ovlivňuje řada faktorů. Mohla byste uvést, které faktory to podle vašich výsledků jsou?
5. Kdybyste porovnála pouze kontroly, mohla byste zhodnotit, který hydrolytický enzym byl nejvíce potlačen v anaerobním prostředí a jaké to může mít důsledky pro fungování mikrobiálního společenstva?

18.1.19

V Českých Budějovicích



Ing. Jiří Bárta, Ph.D.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA,
KATEDRA BIOLOGIE EKOSYSTÉMŮ

Oponentský posudek na magisterskou práci

Název práce: Ověření vlivu rozpustných fenolických látek na aktivitu extracelulárních enzymů v rašeliništích

Autor: Bc. Lucie Kovářová

Oponent: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

HODNOCENÍ PRÁCE

název

- ☒ (x) dobře vystihuje obsah práce, je věcný a stručný
- ☐ () vystihuje obsah práce, avšak ne zcela jednoznačně, věcně a stručně
- ☐ () nevystihuje obsah práce

cíle a hypotézy

- ☒ (x) jasně formulované
- ☐ () nejasně formulované
- ☐ () chybí

úvod a literární přehled

- ☒ (x) jasný a přehledný, vztahuje se k zadané problematice a obsahuje dostatečné množství informací, které shrnuje na přiměřené úrovni poznání v dané oblasti; kriticky hodnotí použité informace
- ☐ () nepřehledný – nelogicky členěný, bez kritické analýzy, avšak s dostatečným množstvím informací
- ☐ () příliš stručný (s nedostatečným množstvím podkladů) nebo nevýstižný a ke zpracovávané problematice se vztahuje pouze částečně

použité informační zdroje založené zejména na

- ☒ (x) původní zahraniční a domácí literatura
- ☐ () učebnice, slovníky a monografie
- ☐ () „šedá literatura“

použitá literatura

- ☒ (x) v odpovídajícím rozsahu
- ☐ () v nedostatečném rozsahu

materiál a metody

- ☐ () jasné, přehledné a srozumitelné, nechybí nic podstatného, množství materiálu (pozorování, opakování v prostoru a čase) a použité metody jsou takové, že pomohou splnit vytčené cíle
- ☒ (x) jasné a srozumitelné, nechybí nic podstatného, ale množství materiálu je nedostačující
- ☐ () nesrozumitelné (není možno posoudit adekvátnost použitých metod a materiálu) nebo nedostatečně popsáné () nevhodně zvolené metody, nemohou dát odpověď na vytčené cíle

výsledky

- ☒ (x) vhodně prezentované, odpovídají použité metodice, k vyhodnocení použity vhodné statistické metody,
- ☐ () zbytečně se opakující výsledky (např. dvoji prezentace v tabulkách i grafech), k vyhodnocení použity vhodné statistické metody
- ☐ () k vyhodnocení nebyly použity vhodné statistické metody
- ☐ () prezentace nedostatečná

interpretace dat (diskuse)

- ☒ (x) odpovídající, autor prokázal dobrou znalost studované problematiky, vhodně cituje dostatečné množství literárních zdrojů

- () diskuse dat je nedostatečná (diskuse neodpovídá úrovni a rozsahu uvedených dat)
() data nepodložená, svým rozsahem neodpovídá zpracovaným datům a údajům, spekulace převládají nad fakty

závěry

- (x) práce má jasné a jednoznačné závěry, které jsou podloženy a odpovídají na cíle a hypotézy práce () závěry jsou sice přesné a podložené, ale úplně neodpovídají cílům práce, nebo některé cíle a hypotézy nejsou zmíněny
() závěry nejsou podloženy či nevycházejí z předkládané práce

FORMÁLNÍ STRÁNKA

a) obrázky a tabulky

- (x) přehledné a obsahují dostatečné množství informací
() nepřehledné, ale obsahují dostatečné množství informací
() nejsou součástí textu
() nevyhovující

b) text

- () formálně dokonalý
(x) bez větších formálních nedostatků
() po formální stránce nevyhovující (nemá doporučené členění)

c) jazyk

- (x) odpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu
() částečně odpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu () neodpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu

d) literatura

- () citována bez chyb, jednotně, citace použité v textu odpovídají seznamu literatury a způsob citací odpovídá mezinárodním nebo českým normám (méně než 5 chyb na práci)
(x) citována s chybami, nejednotně, citace v textu neodpovídají seznamu literatury (chybějící nebo přebývající citace)

obsažené informace jsou

- (x) pro obor nové nebo rozšiřující poznání a v dostatečném rozsahu, mohou tvořit základ publikace v odborném vědeckém časopise
() pro obor nové, ale samy o sobě nemohou tvořit základ publikace v odborném vědeckém časopise
() jsou cenným potvrzením (aplikací) známých skutečností
() jsou jen opakováním již známých skutečností bez nového přínosu

V případě potřeby uveďte, prosím, doplňující komentář k jednotlivým bodům nebo na zvláštním přiloženém listu.
Slovní hodnocení je povinné v případě, že se oponent nezúčastní obhajoby.
doplňující komentář přiložen ANO (x) NE ()

Práce splňuje - nesplňuje požadavky kladené na bakalářské práce předkládané na PřF JU a proto doporučuji – nedoporučuji k obhajobě¹.

Práci hodnotím klasifikačním stupněm¹

VÝBORNĚ VELMI DOBŘE DOBŘE — NEDOSTATEČNĚ

Datum: 17.1.2019

Podpis oponenta:



¹ nehodící se škrtněte

Slovní komentář k diplomové práci „Ověření vlivu rozpustných fenolických látek na aktivitu extracelulárních enzymů v rašeliníštích“

Přestože se v práci najdou nedostatky je práce celkově napsána velmi dobře po formální, obsahové i odborné stránce.

Připomínky k obsahové i odborné stránce:

V Cílech práce a Hypotézách by mohlo být zmíněno a rozvedeno měření aktivity enzymů a mikroorganismů při různých koncentracích minerálních živin.

I podle konstatování diplomantky vypadá, že vzorkování plynů a jejich analýza bylo problematické. Metodiky vzorkování (jaký objem, jak, čím) a stanovování (podmínky chromatografické metody, typ detektoru pro O₂ a CO₂) plynů nejsou vůbec popsány. Kolikrát byl plyn odebrán – kolik opakování? Jaké množství plynu bylo odebráno? Problém je, že každé septum bylo propíchnuto (vytvoření a rozšíření otvoru) minimálně 9 nebo 12 x (podle typu experimentu), což v případě anaerobních kultivací mohlo způsobit průnik kyslíku do vialky. Čím větší by bylo vyvzorkované množství plynu, tím více by se nasálo vzduchu do vialky (udržení podtlaku v ní asi nelze předpokládat vzhledem k otvoru v septu po vzorkování). Není deklarován typ septa vialky, pokud bylo vyrobeno například ze silikonu, docházelo by k (významné) difuzi kyslíku přes toto septum. Difuze kyslíku by mohla poté ovlivnit aktivitu enzymů, u kterých za anaerobních podmínek nebyla významná aktivita předpokládána.

Je deklarováno, že bylo pH měřeno na začátku i na konci pokusu, nikde jsem ale nezaznamenal naměřené hodnoty ani diskuzi na toto téma. Jaké byly změny pH? pH významně ovlivňuje mnoho měřených veličin, jako rozpustnost (alespoň některých) fenolických látek, aktivitu buněk i enzymů, rozpuštěný CO₂ (výpočet CO₂ v roztoku je fixní a nebere tedy v úvahu změny pH – str. 28).

Na str. 58 je v diskuzi k neočekávané vysokým koncentracím fenolických látek deklarováno „Delignifikaci se odstranily z rašeliníku všechny fenolické látky...“. Nenašel jsem však zmínku o kontrolním měření z popisu v Materiálech a metodách vyplývá, že bylo spoléháno na metodu odstranění, že bude 100%, ovšem bez ověření měřením. To může být další důvod neočekávaných výsledků (ne 100% odstranění ligninu) vedle uváděného ovlivnění vlastní měřicí metody dalšími látkami v kultivačním médiu (což by nastalo i u vzorků s neodstraněným ligninem).

Stálo by za to být přesnější ve formulacích ohledně „inhibice enzymové aktivity“ (např. str. 61). Změřená aktivita může znamenat např. malou produkci ale aktivních enzymů nebo i velkou produkci málo aktivních enzymů. Předpokládal bych spíše inhibici (obecněji vliv na mikroorganismy) mikroorganismů produkujících enzymy než specificky inhibici enzymů ale možné je obojí a bylo by dobré diskuzi prohloubit o tento směr. Všechny proměnné parametry (kyslík, minerální látky a fenolické látky) měli (především?) významný vliv na přítomné mikroorganismy (jejich aktivitu) a tedy ve finále na jejich počet a produkci enzymů.

Připomínky k formálním nedostatkům:

Není definován pojem „BMS médium“ (str. 24) ani v textu ani v seznamu zkratk, „DOC“ není v Seznamu zkratk. Je otázka, zdali by neměly být i proměnné a konstanty z rovnic výpočtů CO₂ na str. 28 v Seznamu zkratk.

Práce obsahuje formální chyby především, co se týče uniformity citací v kapitole 7 Literatura: nedodržení jednotnosti mezer mezi zkratkami jmen autorů (J. A. vs. L.H.A.), nesystematické uvádění čísel časopisů za ročníkem („35(2)“) – někde jsou, někde ne, někde s mezerou a jinde bez ní. V několika případech nejsou v názvech článků latinské názvy mikroorganismů nebo rostlin kurzivou. Chyby nicméně nejsou na závadu pro hlavní funkci odkazů – možnost dohledání publikace.

Mohla by diplomantka v diskuzi při obhajobě práce zaměřit pozornost na:

- doplnění hodnot a diskuzi vlivu pH na měření a výsledky?
- podrobnější popsání metodiky vzorkování a stanovování plynů, doplnění hodnot kontrolních měření koncentrace kyslíku v plynné fázi anaerobních kultivací (deklarováno na str. 28 ale nejsou uvedeny hodnoty ve výsledcích) a rozvést možný vliv difuze kyslíku do vialék na své výsledky?
- prohloubení diskuze na téma inhibice enzymové vs. mikrobiální aktivity?

Datum: 17.1.2019

Podpis oponenta:

