

Výsledky budou presentovány ve formě plakátového sdělení na zasedání Korejské společnosti ochrany před zářením, Jeongsun, Korea, v červnu 2009.

Diplomovou práci Heleny Horákové „Studium peroxidace komponent chloroplastových membrán *in vitro* a srovnání s oxidačním poškozením *in vivo*“ doporučuji k obhajobě.

24.5.2009



RNDr. Naďa Wilhelmová, CSc.

Studium peroxidace komponent chloroplastových membrán *in vitro* a srovnání s oxidačním poškozením *in vivo*

Tato práce byla vypracována v ÚEB AVČR, v laboratoři RNDr. Nadi Wilhelmové, CSc. Její náplní je studium oxidačního poškození lipidů a proteinů v thylakoidních membránách z fazolu – jednak v průběhu peroxidace *in vitro*, jednak během přirozeného stárnutí *in vivo*. Téma zapadá do kontextu stárnutí a senescence rostlin, jímž se laboratoř dlouhodobě zabývá, a také do kontextu souvislosti stárnutí s oxidačním stresem, kterému je v posledních letech věnována velká pozornost i v celosvětovém měřítku.

Literární úvod na 20 stranách shrnuje základní poznatky o stárnutí a senescenci rostlin a o úloze ROS v těchto procesech. O něco podrobněji pojednává o těch konkrétních mechanismech účinku ROS, které jsou předmětem této práce – o peroxidaci lipidů a následné tvorbě LFP a o oxidačním poškození proteinů. Jedna kapitola úvodu je věnována peroxidaci *in vitro* jako modelu pro studium oxidačního stresu. Nastihuje způsoby její indukce a také některé zajímavé výsledky, jichž bylo již dříve touto metodou dosaženo. Poslední část úvodu patří mechanismům, kterými se mohou rostliny proti působení oxidačního stresu bránit.

Metodická část popisuje nejen způsob provedení jednotlivých operací, ale také vysvětluje jejich princip, což u méně používaných technik považuji za velmi vhodné.

Výsledky obnášejí 18 stránek včetně obrázků. Zahrnují optimalizaci peroxidace *in vitro* – nalezení vhodné koncentrace Fe^{3+} a askorbátu, určení vhodného pufru a vhodného pH a nezbytnosti chelatačního činidla. Také byly zjištěny vhodné světelné podmínky kultivace rostlin a stáří používaných listů. Výsledky ukazují, že oxidační poškození lipidů peroxidací *in vitro* je výraznější u mladých listů a že koncentrace MDA dosahuje po určité době maxima následovaného relativně pomalejším poklesem. Tato doba se liší u rostlin pěstovaných při různé ozáření. Nástup oxidačního poškození proteinů je pak oproti poškození lipidů výrazně opožděn.

Diskuse na 5 stranách shrnuje poznatky získané experimentální prací a uvádí je do souvislosti s dalšími výsledky téhož pracoviště i s daty publikovanými v odborné literatuře.

V celé práci autorka čerpá z 83 literárních zdrojů, které jsou v Seznamu použité literatury přehledně a konzistentně vyjmenovány.

Po formální stránce lze práci vytknout určité množství překlepů, tvaroslovných chyb a příliš doslovných překladů z angličtiny, které ale jen výjimečně vedou k nepochopení sdělovaného obsahu. Zvláštním rysem je také přílišné používání středníku i tam, kam v souvětí patří čárka. Do seznamu zkratk bych nezaváděl standardní chemické vzorce typu H_2O_2 . Snadnost čtení práce snižuje umístění obrázků až na konci každého celku, takže ty se pak nacházejí i několik stránek od textu, který na ně odkazuje. Některým obrázkům by také stačilo méně místa, než kolik v práci zabírají. Žádný z těchto nedostatků se však nevyskytuje v míře, která by vyžadovala opravu, nebo významně snižovala hodnotu této diplomové práce.

K práci slečny Horákové mám následující otázky:

- Píšete, že pozdější nástup peroxidace lipidů *in vitro* u rostlin pěstovaných při vyšší ozáření je zřejmě dán odlišným složením PUFA. Nemůže se jednat o celkovou adaptaci na zvýšené množství ROS, produkovaných např. intenzivnější fotosyntézou, zahrnující i jiné antioxidantní systémy?