

Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: Mgr. Kateřina Eliášová, Ph.D.

Datum: 28. června 2020

Autor: Bc. Nikola Štěpánová

Název práce: Vliv aplikace *meta*-topolinu na průběh somatické embryogeneze smrku ztepilého

Cíle práce: sledovat vliv záměny 6-benzylaminopurinu za *meta*-topolin v proliferačním médiu na vývoj embryogenní kultury smrku v proliferaci a maturaci na základě vybraných charakteristik – morfologického a strukturního vývoje embryí, výtěžnosti embryogeneze; obsahu nestrukturních sacharidů a škrobu; obsahu fenolických látek a vybraných fytohormonů a stanovení redoxní rovnováhy pletiv podle obsahu kyseliny askorbové a glutathionu.

Hlavní a dílčí cíle jsou přehledně uvedeny.

Struktura (členění) práce

Rozsah práce (počet stran): 50 stran textu + seznam literatury (celkem 58 stran)

Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? ANO

DP je přehledně členěna do obvyklých kapitol a podkapitol.

V abstraktu postrádám bližší vysvětlení „podrobného zmapování vývoje linie“, které autorka uvádí, aniž by uvedla jakými způsoby/ analýzami byl vývoj charakterizován. Není jasné, zda toto podrobné zmapování linie bylo jen přípravou na vlastní experimentální práci nebo již naplní DP. Není ani zcela zřejmé, k jakým výsledkům autorka dospěla.

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, seznam literatury)

Formální úroveň práce je vysoká. Text je napsán čtivou formou, bez stylistických a gramatických chyb, bez překlepů (až na občasnou absenci tečky za větou). Metodické postupy jsou vhodně uvedeny v tabulkách, výsledky jsou přehledně uvedeny v grafech a doplněny fotodokumentací. Seznam literatury je pečlivě zpracován, nicméně některé názvy článků jsou uvedeny velkými písmeny, zřejmě tak jak je vygeneroval citační software. Latinské názvy rostlin doporučuji psát kurzívou.

Logická stavba a jazyková úroveň práce

Práce je vystavěna logicky, jazyková úroveň je vysoká.

Literární přehled:

Odpovídá tématu a je logicky členěn? Ano

Je napsán srozumitelně? Ano

Jsou použité literární zdroje dostatečné, relevantní a aktuální? Ano

Jsou literární zdroje (včetně obrázků) v práci správně citovány? Ano

Materiál a metody:

Šíře použitých metodik. Autorka použila pestrou škálu tradičních metod a charakterizovala vývoj obou embryogenních linií histologicky i biochemicky. Nicméně se domnívám, že pro charakterizování jednotlivých vývojových fází by bylo vhodné kromě histologických řezů použít i jiné mikroskopické techniky, které by umožnily pozorovat v detailu morfologii celých raných i zralých embryí (např. barvení buněčných stěn fluorescenčním barvivem Calcofluor white a následné pozorování v konfokálním mikroskopu a vytvoření 3D projekce). Otázku, zda použití *meta*-topolinu vedlo k větší selekci raných embryí a tím ke snížení plochy meristemických oblastí by mohlo pomoci zodpovědět použití vitálních barviv, které by ukázaly, zda dochází k odumírání raných embryí na počátku maturace.

Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům? Ano

Jsou metody srozumitelně popsány? Ano

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? Ano

Je dokumentace výsledků adekvátní? Ano, pouze postrádám fotodokumentaci zralých kotyledonárních embryí, u nichž byla provedena celá řada analýz.

Je množství provedených experimentů dostačující? Ano, experimenty na sebe vhodně navazovaly a umožnily opakování některých analýz. Bohužel některé plánované histochemické průkazy, které by mohly detailněji popsat a vysvětlit případné rozdíly mezi kulturami/embryi obou variant (lokalizace škrobu a fenolických látek) se nezdařily. Autorka si je tohoto nedostatku plně vědoma. Analýzu fytohormonů by bylo vhodné zopakovat a vzhledem ke studované problematice doplnit o stanovení obsahu endogenních cytokininů.

Diskuze:

Autorka diskutuje získané výsledky s literárními údaji na 8 stranách, svá data porovnává i s dostupnými daty o jiných liniích embryogenní kultury smrku ztepilého.

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? Ano

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? Ano

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? Ano

Závěry (Souhrn):

Jsou závěry podloženy výsledky? Ano

Jsou výstižně formulovány? Ano

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Závěrem konstatuji, že Nikola Štěpánová získala originální výsledky, které porovnala s publikovanou literaturou, splnila vytyčené cíle diplomové práce a prokázala schopnost samostatné tvořivé práce. Práce splňuje nároky na práci diplomovou.

Otázky a připomínky oponenta (povinná část posudku):

- *mT* dle vašich výsledků zlepšuje celkovou „fitness“ nejen jednotlivých embryí, ale zřejmě embryogenní kultury jako takové. Máte teorii (případně víte z literatury) v čem spočívá rozdíl mezi působením BAP a *mT* na buněčné úrovni?
- Stanovení obsahu endogenních cytokininů a jejich derivátů (včetně těch aplikovaných do média) v průběhu maturace zřejmě nebylo provedeno ze závažných důvodů. V závěru diskuze zmiňujete, že z předešlých experimentů je známo, že cytokininy aplikované do proliferačního média přetrvávají v kultuře ještě poměrně dlouho v maturaci. Domníváte se, že toto může být důvod např. vlivu *mT* v proliferačním médiu na zvýšení hladiny kyseliny askorbové v embryích v 5. týdnu maturace?
- Dalším z fytohormonů, které hrají zásadní roli ve vývoji somatických embryí je ABA. Je známo, že její hladina narůstá obvykle až do 4. týdne maturace. Proto je poměrně nízký obsah volné ABA ve 3. týdnu u varianty „BAP“ překvapující. U varianty „*mT*“ zmiňujete výrazný nárůst volné ABA, který ale není z grafu č. 12 patrný (vzhledem k hodnotám v 1. a 2. týdnu maturace u této varianty). Měla jste na mysli vyšší hladinu volné ABA ve srovnání s variantou „BAP“?
- Poslední otázka směřuje ke způsobu odběru vzorků. Uvádíte, že byla odebrána „ESM jako celek“ pokud nebyla vybírána izolovaná embrya. Máte na mysli opravdu celou kupku, nebo její povrchovou tj. aktivně rostoucí část?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

Pozn. Obvyklá délka standardního posudku je cca 2-3 strany.

Instrukce pro vypracování a odevzdání posudku-po dokončení posudku možno tyto instrukce smazat:

- Pro vypracování posudku diplomové práce použijte tento formulář, text standardním písmem slouží jako vodítko
- Posudek můžete sami vložit do SIS, anebo s předstihem zaslat v elektronické podobě na adresu: hana.konradova@natur.cuni.cz a lipavska@natur.cuni.cz, a dále zajistit dodání podepsaného originálu (v 1 výtisku, jako součást protokolu o obhajobě) na sekretariát Katedry experimentální biologie rostlin PřF UK (p. Elena Kozlová), Viničná 5, 128 44 Praha 2. Podepsaný originál posudku musí být dodán před vlastní obhajobou, bez něho nesmí být obhajoba zahájena!