

<b>Posudek na bakalářskou práci</b>	
<input type="checkbox"/> školitelský posudek <input checked="" type="checkbox"/> <b>oponentský posudek</b>	Jméno posuzovatele: Doc. RNDr. H. Lipavská, Ph.D.  Datum: 18.5.2023
Autor: <b>Veronika Jaklová</b>	
Název práce: <b>Role malých RNA v transgenerační stresové paměti rostlin</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b><u>Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel).</u></b> Práce neobsahuje vlastní výsledky.	
<b><u>Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...)</u></b> Cíl je stručně a jasně formulován na závěr úvodu.	
<b><u>Struktura (členění) práce:</u></b> Členění práce odpovídá zvyklostem a obsahuje všechny požadované části jako je úvod, abstrakt v češtině i angličtině, závěr, vysvětlivky použitých zkratk, klíčová slova a seznam použité literatury.	
<b><u>Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány?</u></b> <b><u>Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů?</u></b> Použité literární zdroje jsou dostatečné a relevantní (cca 120 citací). Namátkovou kontrolou jsem neodhalily žádné nedostatky.	
Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány? Práce vlastní výsledky neobsahuje.	
<b><u>Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):</u></b> Formální úroveň práce je vcelku dobrá, obsahuje minimum překlepů nebo neúplných vět. U obr. 2. jsou některé údaje špatně čitelné. Práce obsahuje čtyři obrázky převzaté z literatury ilustrující údaje úvodních kapitol, regulační síť miRNA, biogezezi sRNA, model metylace DNA závislé na sRNA a funkci miRNA při teplotním stresu. Ostatní kapitoly doplněny obrázky nejsou.	
<b><u>Splnění cílů práce a celkové hodnocení:</u></b> Cíl práce byl v podstatě splněn. Studentka bezpochyby vykonala velkou spoustu práce a řada nedostatků, na které upozorňuji v posudku, se často v bakalářských pracích vyskytuje. Nicméně práce není čtenářsky příliš přívětivá, neboť obsahuje řadu formálních nedostatků, ale i neobratných/ nepřesných formulací, což zhusta vede k posunu významů a zhoršené srozumitelnosti. U dlouhých, složitějších souvětí se také někdy nepodařilo uhlídat gramatickou shodu větných členů. Mnohdy jsou uváděny velmi podrobné informace, u kterých není jasné, jak mají přispět k pochopení dané části problému. Domnívám se, že čtenář by často přivítal po obtížném výčtu informací shrnující komentář nebo upozornění na souvislosti např. s předchozími částmi textu. Také na konci jednotlivých oddílů či kapitol by bylo vhodné zařadit alespoň krátký sumarizující text.	
<b><u>Otázky a připomínky oponenta:</u></b> <b>Prosím studentku, aby se během své prezentace zaměřila na roli malých RNA ve stresové paměti a omezila čas věnovaný mechanismům jejich produkce.</b>	
<b><u>Některé příklady ilustrující zmíněné nedostatky:</u></b> <b><u>(na tuto část posudku neočekávám při obhajobě žádnou reakci)</u></b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nesprávně používaná přivlastňovací zájmena svůj a jeho/ jejich.</li> <li>• Seznam zkratk: snaha o uvedení českých překladů, kterou považuji za zbytečnou, vedla k některým zavádějícím až nesprávným vysvětlením zkratk. Např. BRI1 není „protein necitlivý na brassinosteroid“, ale gen, který je mutantní u rostlin necitlivých k brassinosteroidu a kóduje příslušný receptor; dále „doménový protein MYB20“ by asi měl být vysvětlen jako protein obsahující MYB doménu.</li> <li>• Označení miRNA by se nemělo na začátku věty měnit na MiRNA (což se občas vyskytuje</li> </ul>	

i uprostřed věty), v celé práci by se mělo jednotně používat buďto označení miRNAXXX a nebo miRXXX.

- U rostlin se používá termín pletivo nikoli tkáň, což najdeme v BP opakovaně.
- V BP není důsledně dodržováno používání kurzívy pro označení genů a také malých X velkých písmen pro odlišení divoké a mutantní formy genu resp. proteinu.
- Nelogické řazení textu k obrázkům: V textu se nejprve pojednává obr. 2 a teprve později obr.1.
- V převzatých obrázcích jsou přeložené jen některé výrazy, jiné jsou ponechané v původní podobě např. obr1.: drought, salt, cold, některé překlady jsou poněkud úsměvné např. „změna na vegetativní fázi“ nebo „tvorba identity květinových orgánů“.

V textu nalézám řadu neobratných až nesprávných výrazů/ sousloví/ informací:

#### Str.2:

- „sRNA jsou tvořeny sekvenčně homologně s cílovými mRNA“.
- „Pri-miRNA je zpracována pomocí ..... na duplex miRNA-miRNA s tzv. stem-loop, což je prekurzor miRNA (pre-mRNA)“. Popis v textu je zavádějící a neodpovídá obr.2.
- Legenda k obr 1. v originálu: Green boxes: upregulated **RNAs**; red boxes: downregulated RNAs, legenda k témuž obrázku v BP: „zeleně **miRNA** jejichž hladiny se zvyšovaly, červeně miRNA, se sníženou expresí“.

#### Str. 4:

- „... řízení methylace DNA na transkripční úrovni“.

#### Str. 5:

- proč kapitola 2.3. t-RNA fragmenty není zařazena jako podkapitola 2.2. tedy jako 2.2.3 ? Ale i další členění práce je problematické. Kapitola 4 by možná měla být spíš podkapitolou kapitoly 3, protože se týká stresové paměti při působení abiotického stresu a nikoli abiotických faktorů.
- .. k čemu slouží 21nt nat-siRNA .. není z textu jasné
- „... tyto dva mechanismy, fungující na rozdíl od předchozích na transkripční úrovni.“, ale o působení na transkripční úrovni už se v předchozím textu mluví např. na str. 2 : Malé RNA rostlinám umožňují přesně regulovat expresi genů .....prostřednictvím transkripčního ..... umlčování genů RNA. A dále: Tento komplex (RISC) už se pak podílí na samotné regulaci exprese dalších genů (bez uvedení jakých genů a na jaké úrovni se regulace exprese děje).
- RdDM v textu, ale RDDM v seznamu zkratk

#### Str.7:

- „...trvalá reakce po aktivačním stresovém podnětu“ ... něco takového existuje?
- „Somatická stresová paměť je stresová paměť v rámci jednoho jedince, který byl opakovaně vystaven stresu. ....somatická stresová paměť může být zprostředkována ..... podněty vnesenými do semene nebo embrya mateřskou rostlinou“. To je ale základ změny chování potomka na základě zkušenosti matky. Není to tedy vlastně transgenerační paměť?

#### Str.9:

- „dědičnost transgenerační paměti“ ??
- „Během nedostatku vody rostliny neukládají příliš mnoho živin do semen, což může být pozitivně regulováno pomocí sRNA“ ??
- „stres nedostatku vody vedl u potomků stresovaných rostlin (sóji) k nižšímu obsahu chlorofylu a vyššímu obsahu flavonoidů.“ Proč ? Co to rostlinám přináší? V jiném experimentu (pšenice) byl zjištěn naopak vyšší obsah chlorofylu. Uvádění rozporuplných dat bez komentáře nemá pro čtenáře smysl.

#### Str.10:

- „Bylo však dokázáno, že minimálně jedno vystavení rostlin stresu z nedostatku vody napomáhá lepšímu hospodaření s vodou a vzhledově se projevuje větší produkci

biomasy a růstem kořenů hluboko do půdy“?? Asi je myšleno při opakovaném stresu anebo u potomků, ale nic z toho uvedeno není.

**Str.11:**

- „zatímco v zrně byl navýšen transport všech RNA“ Jak si takovou situaci představit?
- „auxinový reakční faktor“ obvykle se nepřekládá, ARF (auxin response factor)
- „proteiny domény TIFY“ by mělo správně být proteiny s doménou TIFY, „amidosyntetáza kyseliny jasmonové“ pravděpodobně má souviset s vytvořením konjugátu jasmononyl-isooleucin.
- Popis změn v expresi jednotlivých miRNA u potomků stresovaných a nestresovaných rodičů uvedený v druhém odstavci, obávám se, čtenáře nikterak neobohatí, nevede totiž k představě o tom, co se v rostlinách vlastně děje. Takovéto „seznamy“ změn, pokud postrádají pointu či komentář, by se měly v BP objevovat jen velmi zřídka.

**Str. 12:**

- „Přítomnost .....vedla ke zlepšení hospodaření s vodou a zvýšila efektivitu fotosyntézy (např. se zvýšil obsah chlorofylu a snížila průduchová vodivost listů, díky čemuž se snižuje asimilace CO<sub>2</sub>)“ To moc příznivě nevyznívá! Jak vysvětlit, že: „zrna... obsahovala více bílkovin“ ?

**Str. 14:**

- V textu na tomto místě se velmi pracuje s jinými typy RNA, a sice ncRNA jako jsou tRF, snoRF nebo snRF. Dosud v souvislosti se stresovou pamětí zmiňovány nebyly. Znamená to, že se jejich role uplatňuje jen u teplotního stresu?
- V druhém odstavci není jasné, o jaké rostliny se jedná.

**Str. 15:**

- „meristem květenství“ raději květní meristém
- „proteiny F-box“ jedná se pravděpodobně o proteiny s F doménou., tedy F-box proteiny

**Str.17:**

- Poslední odstavec: Není jasné, za jakých teplot byly rostliny huseníčku pěstované.
- Lze říct, že samotný mechanismus RdDM byl ovlivnitelný teplotou? A dále: Musejí být epimutace způsobené vysokou metylací ?

**Str. 18.**

- „V další generaci však proces začal znovu a ONSEN byl opět aktivní“. Co se dělo, pokud byly rostliny po 30 dnech „odeznívání“ opět vystaveny teplotnímu stresu ?
- Druhý odstavec je bez citace. –
- 3. odstavec : „V této studii....“ Není zcela jasné v které.

**Str.19:**

- Mutantní gen obvykle malými písmeny a kurzívou (dcl), WT protein velkými standardními písmeny (DLC).
- „Existují totiž proteiny schopné nahradit funkci dcl proteinů „ Jaké proteiny? , nejsou to jen jiné DLC ? Jak si jinak vysvětlit, že u trojitého *dlc* mutanta byla transpozice detekována?
- „Akumulace sodíku může mít ničivé následky, rostliny jsou však schopné ho aktivně vylučovat na povrch a odolávat tak stresu zasolením“. Takto obecně je to s těžší pravda, všechny rostliny aktivně na povrch Na<sup>+</sup> vylučovat nedovedou, a nadto rostliny mají celou řadu dalších mechanismů, jak si s Na<sup>+</sup> poradit (např. „uvěznit“ jej v molekule škrobu).
- „SPL geny ..... při solném stresu působí na rostlinu negativně, zejména co se týče snižování růstu listů i kořenů“. To je asi velmi kusé zdůvodnění, neboť miRNA156-SPL modul reguluje celou řadu procesů, které se účastní řešení nedostatku vody/salinity. Např. posiluje růst kořenů, kontroluje otevírání průduchů, posiluje syntézu kompatibilních solutů, ovlivňuje rovnováhu fytohormonů a další.
- „SPL geny (Squamosa Promoter Binding Protein-Like), což jsou transkripční faktory...“ tato informace měla být už při 1. zmínce o miRNA 156 a SPL genech, a tady by se měly tyto dvě zmínky dát do souvislosti.

**Str.21:**

- .. „u apomiktických pampelišek... „ je třeba vždy zvážit, zda uvedená informace bude nějakým způsobem užitečná v dalším vysvětlování či dokazování, jinak je to plevelný,

zatěžující výraz. Tady jsem ovšem čekala, že se tato charakteristika rostlin v souvislosti s tématem diskutovat bude ☺.

- ... matoucí výrazy: - „potomstvo rostlin stresovaných živinami (lépe - nedostatkem živin)... vykazovalo zvýšenou reakci na poměr kořene a výhonku (lépe - hodnotu poměru hmotnosti kořene a nadzemní části) , ..... udržením vyšších hladin tkáňového fosforu“ ( lépe - vyšších hladin fosforu v pletivech)
- 4.4. Nutriční stres: Lze přítomnost těžkých kovů v prostředí řadit primárně pod nutriční stres? A navíc, proč jsou těžké kovy vloženy mezi dvě části, které se zabývají nedostatkem dusíku?
- „U rodičů došlo ke zvýšení exprese pěti genů a ke snížení exprese zbylých čtyř genů“ Čtenář se ale nedozví, co tyto geny kódují, ani zda byla nalezena souvislost s hladinou sRNA.

#### Str.22:

- 1. odstavec je bez citace !
- „Nedostatek dusíku byl .... zkoumán u rostlin pšenice.... rodičovské rostliny vystaveny tepelnému stresu a následně jejich potomstvo stresu z nedostatku dusíku. Potomci stresovaných rodičů, kteří byli stejně jako jejich rodiče vystaveni nedostatku dusíku“ Nerozumím ???

#### Str.27:

- „Například stres ze sucha.... indukuje přesun .... živin (bílkoviny, fenolické látky, tuky) ..... do semen za pomoci miRNA, jež snížením.... zvyšují translaci“. Translaci obecně?
- „Ze semen pak vyrostou rostliny s transkripční pamětí, které jsou schopné lépe reagovat na stres ze soli.“ To působí jakoby akumulované „živiny“ byly zodpovědné za transkripční paměť potomků. ?????
- Prolin a glycinbetain, myslím, působí při osmotickém stresu primárně jako osmotika, osmoprotektanty a zhášeci ROS.
- 3. odstavec: „Podstatné zvýšení syntézy makroživin indukuje i kombinace nedostatku vody a vysoké teploty“. Proč tedy rostliny takto nestresujeme záměrně? ☺ Snad máte na mysli ukládání většího množství živin v semenech stresovaných rostlin. Mateřské rostliny byly vystaveny kombinaci stresu. Není jasné, jakému (jestliže nějakému?) stresu bylo vystaveno potomstvo. Nebo je jen sledována klíčivost semen? Jak by vypadala situace při působení zmíněných stresů jednotlivě? Odstavec nemá citaci !
- Poslední odstavec: Není jasné, k čemu se ta data vztahují, není popsáno ani, jaké rostliny byly použity ani čemu byly podrobeny. Pokud se odstavec vztahuje k odstavci předchozímu, není to z organizace textu zřejmé!

#### Str.28:

- Kaskády MAPK jsou univerzálním mechanismem přenosu signálu, který hraje různé role v propojení intra – a extracelulárního přechodu u eukaryot. Nerozumím ???
- Záměr 1. odstavce mi není zřejmý.

#### Otázky (prosím, aby na tyto otázky studentka odpověděla při obhajobě)

- Na několika místech je zmíněn transport sRNA do semen jako způsob ovlivnění metylace DNA v rostlinách vyvíjejících se z těchto semen. V jaké fázi vytváření semene k tomuto přenosu dochází? Na str. 13. se praví, že: „zrna byla již v době stresu (který měl indukovat syntézu sRNA) vytvořena“
- Je možné vyloučit při studiu dané problematiky, že stresová paměť není zajištěna (nebo také zajištěna) pomocí nízkomolekulárních signálních látek?
- Souvisí u daného rostlinného druhu míra stresové paměti se způsobem rozmnožování (semeno putuje na velkou vzdálenost x zůstává v těsné blízkosti mateřské rostliny).
- Jak „nákladné“ jsou pro rostlinu mechanismy udržení stresové paměti (např. zavedení a obnova metylace DNA).
- Může studentka navrhnout, jak by mohly být vědomosti o stresové paměti využity pro šlechtění rostlin?

## Návrh hodnocení oponenta

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

## Instrukce pro vyplnění:

- Prosíme oponenty i školitele o co nejstručnější a nejvýstižnější komentáře k jednotlivým bodům (dodržujte rozsah), tučně vyznačené rubriky jsou povinnou součástí posudku.
- Při posuzování je nutno zohlednit požadavky stanovené pro vypracování bakalářských prací – viz <https://www.natur.cuni.cz/biologie/studium/bakalarske-studium>
- Posudek je nutné zaslat elektronicky na e-mail [masek@natur.cuni.cz](mailto:masek@natur.cuni.cz) pro zveřejnění ve studijním informačním systému UK, a dále doručit vytištěný a podepsaný v jedné kopii, která bude nezbytnou součástí protokolu o státní bakalářské zkoušce, na adresu:

Dr. Tomáš Mašek  
Katedra genetiky a mikrobiologie  
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova  
Viničná 5  
128 43 Praha 2