

Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta:

RNDr. Aleš Soukup, PhD.

Datum:

9.9.2013

Autor:

Zdeňka Vojtková

Název práce:

Úloha vybraných podjednotek komplexu exocyst ve vývoji epidermis Arabidopsis

Cíle práce

Jsou jasně definované a odpovídají obsahu práce.

Struktura (členění) práce

Práce má celkem 55 stran. Na 14 stranách je zpracován literární úvod, na 9 M&M, 10 stran je věnováno prezentaci výsledků a 4 strany diskusi.

Obsahuje abstrakt dobře srozumitelný v českém i anglickém jazyce s adekvátními klíčovými slovy.

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

Práce je na dobré formální úrovni s odpovídající grafickou úpravou a obrazovou dokumentací.

Logická stavba a jazyková úroveň práce

Práce je napsána stručně na 41 stranách textu, přehledně a srozumitelně. Autorka volí jazyk, který je sympaticky neformální (např. úvod), ale bohužel obsahuje i některé nepřesnosti a zjednodušení, které nejsou pro odborný text zcela žádoucí (viz. níže).

Literární přehled:

Srozumitelně napsaný úvod je logicky členěný a dobře odpovídá tématu. Shrnuje výchozí informace, na kterých byla práce vystavěna. Použité literární zdroje jsou relevantní a ve většině aktuální. Níže uvádím příklady několika drobných nepřesností a podnětů, které by mohli vést k dalšímu vylepšení textu:

- str 13 – v českém jazyce se místo termínu kotyledon používá děložní list
- str. 14 – po přečtení kapitolky o významu trichomů pro rostlinu čtenáře poněkud překvapí stanovisko, „že poruchy jejich vývoje neohrožují život rostliny a pro normální růst a vývoj nejsou trichomy potřebné.“ – proč je tedy rostlina má? Následně je při hodnocení trichomu jako experimentálního modelu uvedeno, že „Některé mutace vykazují fenotyp pouze ve vývoji trichomů, ale většina mutantů vyazuje i jiné vývojové defekty rostliny, ne jen trichomové.“ (str 17)
- str 16 a jinde – ne zcela správně je používána terminologie určení směrů v rostlinném těle; „Buňka v této první fázi roste radiálně (izodiametricky) a expanduje do svého okolí, ale zatím nevyčnívá nad rovinu listu. V Jiném odstavci: „První větev se objevuje jako vyboulení na distální straně válcovitého trichomu a to nikoli na špičce válce, nýbrž přibližně v polovině válce, mezi bazí a špičkou“
- str. 16 - Popis vzniku větví trichomů implikuje specifickou orientaci prvních sdvou větví vůči hlavní ose listu. Orientace trichomů na plně diferencovaném listu ale

takovému uspořádání neodpovídá. Je možné vysvětlit proč?

- str. 19 - „Jednou z hlavních složek sekundárních buněčných stěn rostlin je lignin, po celulóze druhý nejhojnější biopolymer na planetě.“ – Jak je to s lignifikací sekundární BS? Je lignifikace sekundární BS pravidlem?
- str. 19 - „V práci Marks et al., (2008) byla stěna trichomů podrobena analýze. Z trichomů byly izolovány stěnové monosacharidy, které byly poté analyzovány plynovou chromatografií. Největší izolovaná frakce monosacharidů byla frakce glukózy, galaktózy a arabinózy. Následovala v menším množství izolovaná frakce manózy, rhamnózy, xylózy a fukózy. Tato data z biochemické analýzy poukázala na to, že trichomové buněčné stěny v sobě spojují charakteristiky jak primárních, tak sekundárních stěn (Marks et al., 2008). – Autoři uvedené práce mají závěr trochu jiný: „the trichome wall is more like typical primary walls even though it becomes quite thick“ (což odpovídá i závěrům exprese primárních a sekundárních CESA uvedená níže v textu úvodu)
- str 21- Autorka uvádí, že „Trichomy mutanta trichome birefringence polarizované světlo nelámou.“ V tomto případě to není správné vyjádření...

Materiál a metody:

Tato část je napsána velmi přehledně a srozumitelně popisuje poměrně široké spektrum metodických postupů využitých studentkou. Následující komentáře dokládají drobné nedokonalosti, které jsou ale z pohledu oponenta minoritní:

- „měkké UV záření (360nm)“ není právě korektním označením a UVA nebo dlouhovlnné UV by bylo vhodnější
- byla pro většinu roztoků skutečně používána dvakrát destilovaná voda (ddH₂O - podle seznamu zkratk)?
- str. 24 – MD medium – netuším co je to „dropout“
- není vhodné udávat koncentraci antibiotika v µl/ml bez udání koncentrace zásobního roztoku
- analyzátor gelů (GeneTool) nepoužívá světelnosti proužku elektroforetogramu, ale hodnoty jasu
- analyzátor obrazu není FIJI ale ImageJ. FIJI je pouze jednou z distribucí tohoto programu se specifickou sadou pluginů (pro Life Sciences).

Experimentální část:

Uspořádání a cíl experimentů jsou dobře promyšlené a naplánované. Provedení experimentů je pečlivé, konzistentní a beze mě zřetelných výrazných nedostatků. Výsledky jsou vhodně obrazově dokumentovány a kvantitativní data představena ve formě grafů s vyznačením signifikantních rozdílů. Pouze bych doporučil v takovém případě uvést typ statistiky (ANOVA, T-test, atd.) a počet replikantů.

Diskuze:

Diskuse se mi zdá vzhledem k představovanému množství výsledků a tématice poměrně stručná a domnívám se, že by mohla být detailnější s využitím většího množství aktuální literatury, s kterou jsou dosažené výsledky konfrontovány. Komentáře viz. otázky uvedené níže.

Závěry (Souhrn):

Závěry odpovídají dosaženým výsledkům a jsou jednoznačně formulovány. Zároveň otevírají výhled další, někdy již započaté práce na uvedené tématice pro navazující studium. např.

příprava markerových linií a jejich křížení, použití jiného promotoru pro komplementaci mutace atd.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Diplomová práce Zdenky Vojtkové se zabývá funkcí předpokládané podjednotky exocystu EXO70H4 v huseníčku. Práce zapadá do dlouhodobého výzkumu v oblasti buněčné morfogeneze a polarity laboratoře školitele a úspěšně využívá její metodické zázemí. Z uspořádání prezentovaných experimentů je patrný dobře promyšlený postup (školitel, konzultant). Studentka se během práce seznámila s řadou metodických přístupů - např. PCR, klonování NA a tvorba konstruktů, transientní a stabilní transformace rostlin, světelná mikroskopie, dvouhybridní systém pro detekci interakce bílkovin. Právě v tomto ohledu je práce nadprůměrná a jistě splňuje požadavky kladené na práci diplomovou. Rád ji proto doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

- V práci je popsána akumulace váčků v trichomech mutanta EXO70H4 při osvětlení dlouhovlnným UVA zářením. Byl nějak sledován charakter tohoto materiálu? Např. jeho autofluorescence, barvitelnost?
- Autorka navrhuje využití mutace v PME35 pro srovnání s fenotypem mutanta EXO70H4. Pokud předpokládáte podobný fenotypový projev, můžete vysvětlit proč?
- v diskusi je komentován nesignifikantní vliv UV záření na plochu listu souboru při použití 44 replikantů a navrhuje navýšení jejich počtu na 300 pro dosažení statistické signifikance s odvoláním na výsledky práce Yan et al. 2012. Na základě čeho autorka takto soudí a proč předpokládá, že by navýšení vedlo k signifikantnímu rozdílu. Není pravděpodobnější, že je to vliv jiného použitého ozáření, nebo že změna struktury skutečně nemá vliv na odolnost vůči UVA to třeba i s ohledem na akumulaci „účinného“ materiálu v protoplastu trichomu?
- z posuzovaného textu (např. diskuse str. 46) jsem získal dojem téměř výlučného propojení UV, EXO70H4 a COP1. Ve všech případech ale jde o obecnější funkci, které by mohla být spojena pouze s vysokou mírou ozáření PHAR (např Pacin, The Plant Journal, 2013; Maier, The PlantJournal, 2013). Jaký je názor diplomantky?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: