

## Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: doc. RNDr. Jaromír Kutík, CSc.

Datum: 18. 5. 2014

**Autor: Bc. Anna Vrbová**

**Název práce: Ultrastruktura chloroplastů buku pod vlivem zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> a různé ozáření**

**Cíle práce: 1. Vyhodnocení změn v ultrastruktuře chloroplastů buku lesního (*Fagus sylvatica* L.) pod vlivem zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> a různé ozáření. 2. Vyhodnocení, zda kvantitativně vyjádřené parametry ultrastruktury chloroplastů ve střední části listu buku lesního mohou být považovány za reprezentativní pro celou čepel listu.**

**Struktura (členění) práce: odpovídá zvyklostem běžným pro magisterské práce.**

Rozsah práce (počet stran): 96 stran.

Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? Ano.

**Formální úroveň práce** (obrazová dokumentace, grafika, text, seznam literatury) je vynikající. V celé práci je jen velmi málo překlepů – vyznačil jsem je.

**Logická stavba a jazyková úroveň práce jsou výborné.**

### **Literární přehled:**

Odpovídá tématu a je logicky členěn? Ano, je velmi kvalitní a zejména kapitoly týkající se struktury a fungování thylakoidních gran ve chloroplastech (2.1.1.1, 2.1.1.2, 2.2.2 a 2.2.2.1) tvoří přehled, v současnosti v češtině asi ojedinělý. Rozsahem poněkud „ošízená“ mi připadá kapitola 2.4 o gradientech anatomických parametrů na listové čepeli.

Je napsán srozumitelně? Ano.

Jsou použité literární zdroje dostatečné, relevantní a aktuální? Ano, seznam citované literatury má 148 relevantních položek, od 60. let 20. století až do letošního roku.

Jsou literární zdroje (včetně obrázků) v práci správně citovány? Ano, vyznačil jsem jen několik neúplných citací.

### **Materiál a metody:**

Šíře použitých metodik je značná: pěstování pokusných stromků a odběr vzorků listů, příprava preparátů pro transmisní elektronovou mikroskopii (TEM), stanovení vybraných strukturálních parametrů chloroplastů pomocí stereologických metod, konkrétně bodové metody v programu Ellipse.

Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům? Ano.

Jsou metody srozumitelně popsány? Ano.

**Experimentální část:**

Je vysvětlen cíl experimentů? Ano.

Je dokumentace výsledků adekvátní? Ano. Chválím zejména úvodní kapitolu 4.1, podrobně mapující úskalí kvantitativního hodnocení ultrastruktury chloroplastů pomocí TEM. Myslím, že si zaslouží publikaci v impaktovaném mezinárodním časopisu, jako metodické sdělení nebo jako součást problémově pojatého článku.

Je množství provedených experimentů dostačující? Ano, byť šlo vlastně o jediný, ovšem velice náročný experiment, využívající terénní kultivační sféry pro pěstování dřevin za různé atmosférické koncentrace oxidu uhličitého, zařízení v Česku unikátní. Nicméně, pro publikaci výsledků by bylo dobré celý experiment nezávisle zopakovat.

**Diskuze:**

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? Ano, jde skutečně o diskusi a je dobře rozvržena a pěkně napsána, na 14 stranách.

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? Ano.

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? Ano. Kolegyně Vrbová prokázala, že oba sledované faktory – koncentrace CO<sub>2</sub> i ozáření – významně ovlivňují ultrastrukturu chloroplastů buku lesního. Za zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> (EC) průkazně vzrostl podíl škrobu na ploše mediálního řezu chloroplastem a průkazně se snížil podíl intergranálních thylakoidů na této ploše. Druhý z uvedených rozdílů může podle autorky souviset s poklesem fotorespirace za EC. Autorka má pravdu, že pokud jde o vliv EC na strukturu chloroplastů listnatých dřevin, ještě zdaleka nebyly zodpovězeny všechny otázky. Pro další práce podobného zaměření je důležité také její zjištění, že hodnoty kvantitativních charakteristik ultrastruktury chloroplastů měřené ve středu listové čepele a používané jako referenční, nejsou zcela reprezentativní pro celou její plochu.

**Závěry (Souhrn):**

Jsou závěry podloženy výsledky? Ano.

Jsou výstižně formulovány? Ano.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

**Domnívám se, že cíle práce byly splněny. Diplomovou práci kolegyně Vrbové hodnotím jako velmi zdařilou.**

**Otázky a připomínky oponenta:**

Žádám diplomantku, aby si prohlédla moje opravy a drobné i větší připomínky, vyznačené v exempláři její práce, který jsem měl k dispozici. Je to důležité pro publikování předložených výsledků a pro její další vědeckou činnost, ve které jí přeji mnoho úspěchů. Zde uvádím několik nejdůležitějších otázek a připomínek.

Zaujalo mne, zda a jak souvisí předložená práce s činností třeboňského pracoviště Algatech? Na str. 27 a 31 dole je zřejmě chybně uvedeno, že v Paolillově helikálním modelu grana je každé granum spojeno přibližně osmi intergranálními thylakoidy se sousedními grany – to číslo se vztahuje k jednotlivým thylakoidním diskům.

V práci Kutík et al. (2004) a Kubínová a Kutík (2007) šlo o vliv chladu na chloroplasty

kukuřice, mráz by asi nepřežily.

Na str. 37, druhý odst.: fotorespirace je u C4 rostlin jen potlačena, nikoliv eliminována.

Str. 42, konec třetího odst.: chloroplasty mají čočkovitý tvar, šířka jejich mediálního řezu je jejich tloušťka.

Myslím, že je věcí diskuse, zda je zásadní rozdíl mezi výběžky a stromuly chloroplastů, str. 44 a 45?

Metodika, str. 48 : domnívám se, že při několikahodinové přepravě listů, ze kterých se fixovalo pro TEM, „v chladu a temnu“, mohla být ovlivněna ultrastruktura buněk, resp. chloroplastů. Co o tom autorka soudí?

Výsledky, obr. 3.4: asi nepřesně položené zelené označení grana, obr. 3.5: na A chybí červené a zelené křížky.

Str. 54, druhý odst.: nepravidelná orientace gran je příčinou, ne důsledkem jejich nezřetelného vzhledu na řezu.

Membránové „bublíny“ a váčky na str. 54, třetí odst.: již např. Westphal et al., FEBS Letters 506: 257-261, 2001 je popisují jako projev vesikulárního transportu ve chloroplastech.

Graf 4.8 (str. 62): u poměru GT/IGT nejde o procenta, totéž u grafu 4.17 na str. 68.

Graf 4.9 (str. 63): popis grafu na str. 57 mu neodpovídá.

Obrázky 4.8 a 4.9 na str. 58: není uvedeno, zda nebo kde jde o AC nebo EC oxidu uhličitého.

Graf 4.19 na str. 69: jde o podíl (na ploše řezu chloroplastu), ne o poměr GT.

Diskuse, str. 84 nahoře: nelíbí se mi „Jedinec ale také může být jeden list,...“. Poslední věta následujícího odstavce je myslím zbytečná a poněkud matoucí.

**Návrh hodnocení oponenta** (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: