Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: RNDr. Zuzana Vondráková, CSc.

Datum: 26.8. 2014

Autor: Bc. Marek Širl

Název práce: Studium faktorů ovlivňujících účinnost transformace konopí setého (*Cannabis sativa L.*)

Cíle práce

Jsou stanoveny 3 cíle, i když užití slova „zejména“ naznačuje i další možné řešené cíle; Cíl 2 (snaha o optimalizaci…) a cíl 3 (zhodnocení možností…) jsou poměrně málo konkrétní.

Struktura (členění) práce
Rozsah práce (počet stran): 51
Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova?

Práce je členěna jasně a přehledně, obsahuje abstrakt v češtině i angličtině (doporučuji opravit překlepy) a odpovídající klíčová slova.
V seznamu zkratek doporučuji změnit označení IBA na běžný český název kyselina indolyl-3-máselná.

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

Práce je po grafické stránce dobře zpracovaná, kvalita fotografií je spíše průměrná, práce poskytuje kvalitní seznam literárních zdrojů.

Logická stavba a jazyková úroveň práce

Práce je dobře logicky vystavěná. V textu se vyskytuje řada překlepů a neobratností. Snaha používat k vyjádření především trpný rod sloves vede občas ke vzniku podivných větných konstrukcí.

Literární přehled:

Odpovídá tématu a je logicky členěn? Ano
Je napsán srozumitelně? Ano
Jsou použité literární zdroje dostatečné, relevantní a aktuální? Ano s výhradou
Jsou literární zdroje (včetně obrázků) v práci správně citovány? Ano

V práci není uvedena jako zdroj Bakalářská práce autora, která zcela jistě byla výchozím materiálem pro další práci; postrádám i klasické práce o transformaci chmele, který je s konopím porovnáván (Rakouský, Matoušek 1994; Oriniaková et al. 1999)

Materiál a metody:

Šíře použitých metodik.

Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům? Ano

Jsou metody srozumitelně popsány? Ne zcela

Šíře použitých metodik je dostatečná a odpovídá i prezentovaným výsledkům, nicméně metodická část práce je hůře přehledná a postrádá řadu detailů:

- u chemikálií ze zásob VÚRV by měl být uveden výrobce
- při přípravě kultivačních médií není jasné, zda se některé komponenty sterilizovaly filtrací – tak jak je uvedeno v prvním odstavci metodiky
- u všech kultivací by měly být uvedeny přesně definované podmínky – teplotní (včetně pokojové teploty), světelné (včetně kvality a intenzity světla), délka dne, popř. interval pasážování; tyto informace jsou sice uváděny, ale ne vždy a ne všechny
- nodální segmenty pro mikropropagaci by bylo dobré lépe charakterizovat – uvést délku, velikost řezné plochy, uložení segmentu na médium

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? Ano, cíle odpovídají logice práce.

Je dokumentace výsledků adekvátní? Ano

Je množství provedených experimentů dostačující? Ano, s výhradou

Postrádám experimenty, které by prokázaly, že je vhodné použít právě vybrané fytohormony do kultivačních médií – v rozporu s výsledky základní práce Slusarkiewicz-Jarzina et al. 2005. Chybí také experimentální zdůvodnění použití maltózy do kultivačních médií.

Diskuze:

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, v menší míře.

Témata vybraná do diskuze mohou být sama o sobě diskutabilní, není např. obvyklé diskutovat výsledky, které autor zjistil pouze ústním sdělením od kolegů. Výsledek dokazující optimální tvorbu kalusu na médiu s auxinem (NAA) a cytokininem (TDZ) by se naopak měl prezentovat jako potvrzení modelu definovaného Skoogem a Millerem (1957) o působení těchto fytohormonů v organogenezi. Stejně tak asi není nutné diskutovat zjištění, že stárnoucí semena ztrácejí klíčivost – nicméně fyziologický stav rostlin, ze kterých jsou odebírány explantáty je jistě důležitým diskuzním tématem. Zvláštní kapitolou diskuze je statistická průkaznost výsledků – autor provedl statistická hodnocení vhodná pro použitý materiál ve všech experimentech, kde bylo možné je uplatnit. Přesto v diskuzi označuje průkaznost takto ověřených dat za problematickou. (Nepřesvědčivě působí i dvě věty ve výsledcích na str. 35 o statistické průkaznosti dat.) V závěrečném odstavci diskuze pak poctivě přiznává problémy s plánováním experimentů a časovým rozvrhem práce, který ovlivnil množství získaných dat. Toto sdělení však do diskuze o vlastních výsledcích nepatří.

Závěry (Souhrn):

Jsou závěry podložené výsledky? Ano, s výhradou

Jsou výstižně formulovány? Jsou hodně stručné.

Závěry jsou shrnuty do pěti bodů. Bod 2 uvádí, že bylo stanoveno optimální složení média pro tvorbu kalusu, ale neuvádí zde jeho složení. Bod 4 (byly odvozeny protoplasty transformované…) shrnuje výsledky velmi optimisticky, vzhledem k tomu, že „izolace protoplastů měla nízkou úspěšnost“ a „vzhledem k spíše náhodnému odvozování jednotlivých protoplastů nebyla míra transformací nijak hodnocena“, jak se uvádí ve výsledcích na str. 40 a 41. Také v bodu 5 by bylo třeba specifikovat, co je přesně myšleno úspěšnou kokultivací explantátů s Agrobacteriem.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Název diplomové práce slibuje ověření vlivu různých faktorů na účinnost transformace konopí. Vlastní cíle pak stanovují jednotlivé kroky k jeho plnění – zisk *in vitro* kultur konopí, regeneraci rostlin z kalusu a zhodnocení možností transformace a regenerace transformovaných rostlin.
Takto nastavené konkrétní cíle byly velice ambiciózní a odvážné neboť převedení rostlin konopí do *in vitro* kultury sice probíhá bez větších problémů, ale jejich regenerace z kalusu je krokem velmi problematickým, který je dosud doložen pouze výjimečně. Vzhledem k tomu, že další cíl předpokládá splnění předcházejících, může být jeho plnění ohroženo. O problémech spojených s plněním stanovených úkolů píše autor v posledním odstavci diskuse (str. 45).
Je tedy nutné konstatovat, že vysoké cíle této práce nebyly splněny beze zbytku, ale pro optimální zpracování problematiky udělal autor zřejmě vše, co bylo za daných podmínek možné.

Předkládaná diplomová práce poskytuje informaci o stavu problematiky týkající se především kultivací konopí *in vitro*, naznačuje cesty v řízení organogeneze na explantátech konopí, ukazuje i náhled na problémy s transformací této rostliny. Práce je adekvátně graficky zpracovaná, poskytuje slušný literární přehled i odpovídající soubor použité literatury. Slabší stránkou je méně přehledný oddíl materiálu a metodiky. V oddílu výsledků je patrná snaha co nejlépe výsledky uspořádat a dokumentovat, diskuze je slabším článkem práce, její kvalitu by zvýšilo větší soustředění na konkrétní výsledky, vliv fytohormonů na organogenezi, vliv vnějších podmínek na mateřské rostliny a na explantáty, a následně vliv na vlastní transformaci. Závěry práce jsou stručné a snad až příliš optimistické vzhledem k výsledkům. Lze předpokládat, že autor jistě během práce sbíral důležité zkušenosti pozitivní i negativní týkající se možností transformace, je škoda, že je neuplatnil při širším plánování dalších kroků v řešení této problematiky.
Celkově lze shrnout, že autor vypracoval diplomovou práci, která poskytuje informaci o experimentální práci, která může být východiskem pro další zkoumání tématu. Co se tématu i kvality zpracování týče, je diplomová práce spíše v kategorii průměrných prací.

Otázky a připomínky oponenta:
Nechci vypočítávat jednotlivé konkrétní překlepy či stylistické neobratnosti, protože ty lze při pozorném čtení snadno odhalit a opravit. Zásadnější připomínky jsem uvedla v předcházejících bodech.

Otázky pro autora:

- jaká kritéria byste vybral pro hodnocení fyziologického stavu rostliny konopí před

odběrem explantátu
- jak ovlivňuje kvalita a intenzita světla stav rostliny a následně i explantátů z ní odebraných, popř. jak světlo ovlivňuje organogenezi; jaké zdroje světla jste pro kultivaci užíval
- proč neužíváte pro hodnocení stavu suspenzní kultury také kvantitativní parametry; jak vypadá růstová křivka vámi odvozených suspenzních kultur
- jak ovlivňují různé cukry v kultivačním médiu organogenezi konopí
- můžete stručně popsat vaši představu dalších kroků v řešení problematiky transformace konopí

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

☐ výborně ☐ velmi dobře ☒ dobře ☐ nevyhověl(a)

Podpis oponenta: