

Posudek na diplomovou práci Jany Kholové

Vliv hypoxických a posthypoxických podmínek na fyziologické a morfologické charakteristiky kukuřice a genetické efekty uplatňující se v jejich dědičnosti

Diplomová práce Jany Kholové je vypracována na aktuální téma stresové fyziologie a dědičnosti znaků umožňujících rostlinám ve stresových podmínkách přežít. Práce má značný rozsah (181 stran) a úctyhodné množství citované literatury. Práce je členěna standardním způsobem, který zcela vyhovuje charakteru práce. Na začátku je uveden anglický abstrakt psaný dobrou angličtinou. Úvodní část je pak zakončena formulací cílů práce.

Přehled literatury je velmi obsáhlý, zahrnuje i části, které jsou značně obecné a nejsou nezbytně nutné (např. obecná charakteristika stresu a jeho jednotlivé typy) a jsou spíše učebnicového charakteru. V zásadě však autorka sebrala velké množství materiálu a v naprosté většině případů ho i správně interpretuje. Diskutovat by se mohlo o seřazení jednotlivých kapitol. Osobně bych preferovala začít s informací, že rostliny můžeme rozdělit na ty, které jsou schopné a které nejsou schopné žít v zaplavených substrátech a od toho pak odvíjet možnosti adaptací či aklimací těchto rostlin. Domnívám se, že by autorka pak měla snazší možnost vysvětlení biochemických i anatomicko-fyziologických procesů, které v rostlinách probíhají. Ale autorka má samozřejmě nárok na svůj názor. Co by ale opravdu prospělo je zařazení třeba krátké kapitoly o přenosu signálu při hypoxii. Informace o něm sice v práci jsou, ale roztroušené mezi ostatními a čtenář si je jen obtížně může dát dohromady. Krom toho je toto oblast, kde v poslední době znalostí rychle přibývá, ať už jde o roli NO, hemoglobinů apod.

Materiál a metody jsou popsány dostatečně podrobně i přesně. K pokusům bylo vhodně využito dvou inbredních linií, u kterých byla v předběžných pokusech prokázána odlišná míra tolerance, dále jedinci F1 (reciproci kříženci) a F2 generací. Tento přístup je originální – v literatuře je vesměs využíváno srovnávání různých, často nepříbuzných genotypů. Autorka zvládla velké množství metod, a to nejen metod běžně používaných v pracovní skupině, kde vypracovávala svoji práci. Iniciativně se zapracovala i do zcela nových metodik, zejména přípravy anatomických preparátů.

Výsledky jsou dokumentovány velkým množstvím tabulek a grafů a jsou velmi podrobně statisticky hodnoceny, což je pro pokusy tohoto typu nezbytné. Nevím, jaké jsou zvyklosti hodnocení takovýchto pokusů, já osobně bych preferovala uvést nejdřív grafy a pak tabulky se statistikou; krom toho bych asi začala s tím jednodušším, tedy s výsledky růstových charakteristik rostlin.

Výsledky růstových charakteristik nejsou vždy zcela typické. Překvapilo mě zejména zvýšení suché hmotnosti kořenů zaplavených rostlin. Má autorka nějakou představu, zda se nějak výrazně měnilo uspořádání kořenové soustavy (např. tvorba většího počtu nodálních kořenů)? Výsledky anatomické studie jsou zajímavé, jak sama autorka však říká jsou jen předběžné. Jistě by stálo za to v těchto studiích pokračovat s použitím kvantitativních metod a obrazové analýzy.

Výsledky jsou adekvátně diskutovány a na závěr shrnuty. Mám jen několik drobných poznámek. Výsledky uvádějící větší negativní odezvu rostlin na reaceraci než na vlastní zaplavení byly publikovány v řadě prací a mohly by být v diskusi více rozvedeny. Byla bych opatrná s tvrzením, že anatomické studie jednoznačně ukazují na nižší lignifikaci, suberinizaci a kutinizaci. Podle materiálů, které autorka má, to nelze tvrdit. Barvení, které autorka použila zdaleka není specifické a nejvýše bych se odvážila tvrdit, že se zde ukazuje tato možnost. Ta by však musela být potvrzena dalšími testy, nejlépe pak ve spojení s biochemickou analýzou. V bodě 3 (str. 166) se říká, že jednotlivé genotypy se nelišily. Asi by chtělo lépe formulovat.

Některé další poznámky uvádím na závěr posudku. Mnohé z nich jsou spíše diskusního charakteru, potěšilo by mě, kdyby autorka řekla svůj názor. Jiné ukazují drobné

chyby – na ty není potřeba reagovat, ale myslím, že některé by bylo vhodné v práci opravit před jejím uložením do knihovny.

ZÁVĚR: Diplomová práce Jany Kholové prokazuje velmi dobrou schopnost autorky používat metody vědecké práce, hodnotit získané výsledky a diskutovat je v souladu s prostudovanou literaturou. Autorka splnila nároky kladené na diplomovou práci, a proto doporučuji, aby tato práce byla přijata jako práce diplomová a klasifikována stupněm výborně.

RNDr. Olga Votrubová, CSc.
katedra fyziologie rostlin

Konkrétní připomínky:

V práci je nesprávně používán latinský název rýže (*Orysa* místo *Oryza*) – např. str. 10 a další. Str. 14 – myslím, že není možné říkat, že celková koncentrace ATP se při hypoxii nemění – to může platit o počátečních fázích, ale nikoliv při dlouhodobé hypoxii a dále pak v závislosti na typu rostliny. Rovněž bych netvrdila, že „buňky pletiv vystavených hypoxii odumírají PCD“ – řada buněk může odumírat nekrotou.

Na str. 15 nelze tvrdit, že rozpustnost plynů ve vodě je 10 000 krát nižší ve vzduchu. Rozpustnost plynů ve vodě je velmi různá a to, co autorka uvádí platí pro rychlost difúze. Dále bych netvrdila, že v anaerobních podmínkách dochází k uvolnění redukovaných iontů z jejich nerozpustných forem. V anaerobních podmínkách je důležité, že vůbec dochází k jejich redukci (mohou fungovat jako akceptory elektronů). K vlivu nedostatku kyslíku na koloběh dusíku by bylo vhodné dodat, že rovněž uniká do ovzduší v plynné formě. Na str. 15, kde se hovoří o změnách formy dusíku v rostlinných pletivech je popisován především vznik NO. Ten je nepochybně důležitou signální molekulou, která se zřejmě uplatňuje i při hypoxii, nicméně bych o něm asi nehovořila při popisu změn forem N v rostlině. Tato fakta by bylo logické uvést tam, kde se hovoří o přenosu signálu při hypoxii a/nebo anoxii. Spíše bych zde rozvedla fakt přeměny nitrátu na amonný ion a na jeho možnou toxicitu pro řadu rostlin, pokud je přítomen ve vyšších koncentracích.

Na str. 17 – GABA je kyselina γ - aminomáselná.

Pro název etylénu bych nekombinovala dva možné způsoby psaní.

Str. 18 – ACC může být transportována do nadzemní části a tam oxidována, ale může být oxidována i v kořenech, pokud je zde alespoň určitý limitní obsah kyslíku. Etylén vzniklý v nadzemní části by byl málo platný v kořenech.

Možná by autorka vysvětlit, proč hovoří (str.21) o vlivu etanolu na chloroplasty? K zaplavení nadzemních orgánů dochází poměrně málokdy. Lze předpokládat např. transport etanolu vzniklého v kořenech do nadzemní části?

Co znamená „u hypoxie sensitivních rostlin“?

Str. 22 dekarboxilován místo dekarboxylován a krysty míst krysty. Je si autorka jistá, že termín anaerobie je používán? Při popisu biochemických změn při hypoxii autorka cituje relativně staré práce. Ty stále mají svůj význam, nicméně existují novější, např. nedávno (2005) vyšla zajímavá review v *Annals of Botany* (Felle, H.H.: pH regulation in anoxic plants) apod.

Na str.23 (poslední řádek) se hovoří o možných odlišnostech fermentace transportovaných sacharidů a vzápětí se hovoří o amylase v kořenech, což působí jako kdyby škrob mohl být transportován do kořenů.

Str. 25 Raději než o kořenovém kortexu bych mluvila o primární kůře kořene. Hromadný tok aerenchymem může vznikat nejen na základě rozdílných teplot (lépe než kolísáním teplot).

Str. 29 – pokud jde o ROS a rozvolňování buněčné stěny – spíše než o degradaci stěny se uvažuje o rozvolňování jak nezbytném předpokladu pro růst stěny.

Str. 48 butanol, nikoliv buthanol.

Názory k úvaze:

Na str. 13, kde uvádí příklady struktur, které rostlinám umožňují vyhnout se stresu bych asi uvedla struktury, které mají vztah k hypoxii.

Na str. 14, kde autorka hovoří o tom, že opakované působení stresových faktorů se v průběhu evoluce často stalo nutným předpokladem přechodu rostliny z jednoho vývojového stadia do dalšího uvádí jako příklad kvetení a působení nízkých teplot. Jako příklad bych možná zvolila spíše fotoperiodismus, který je častější, zejména u rostlin našich pásem.

V práci je na několika místech hovořeno o přenosech signálu při hypoxii. Tato významná fakta by bylo dle mého názoru lepší shrnout do samostatné kapitoly, kde by se rozebrala role jak fytohormonů (zejména etylénu), tak iontů vápenatých, cytochromu, NO atd.