

## **Oponentský posudek na dizertační práci**

**Autorka: Mgr. Radka Podlipná**

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra anatomie a fyziologie rostlin**

**Název práce: Studium detoxikace nitrosloučenin tkáňovými kulturami rostlin**

**Oponent: Prof. RNDr. Ladislav Havel, CSc.**

**Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně**

**Ústav biologie rostlin**

Předložená dizertační práce se zabývá nanejvýš aktuálním tématem – detoxikací látek, které zamořují životní prostředí. Jedná se o nitrosloučeniny, tedy látky, jejichž široké spektrum může životní prostředí kontaminovat z nejrůznějších zdrojů a které na lidský organismus působí negativně svoji toxicitou na úrovni genetické, fyziologické či biochemické (nitroglycerin terapeuticky působící v nízkých koncentracích je výjimkou potvrzující pravidlo). Pro studium byly vybrány rostlinné organismy, které, jak autorka sama zdůrazňuje, při svém využití při odstraňování negativně působících látek nenarušují dále životní prostředí, naopak ho mohou při ještě zlepšovat. Předložená práce tedy významně přispívá k řešení problematiky fytoemediací.

Rozsáhlá práce je členěna klasickým způsobem na část teoretickou, cíl, materiál a metody, diskusi, závěry a seznam použité literatury. Již na tomto místě musím podotknout, že název práce odpovídá obsahu jen v první části. Druhá část názvu „tkáňovými kulturami“ nekoresponduje se skutečností, protože jako experimentální modely byly využity nejen rostliny kultivované technikami explantátových kultur, ale i rostliny intaktní kultivované v „hydroponii“, v zemině a dalších kultivačních systémech. Žádám o vysvětlení této dost neobvyklé situace, která byla však byla snad řešitelná. Neklasické je, že text je psán oboustranně.

V rozsáhlém teoretickém přehledu (42 stran textu) Mgr. Chytilová prokázala, jak důkladně se z celou otázkou seznámila. Zasadila problematiku nitrolátek a jejich metabolismus do širokého kontextu. Věnovala pozornost jejich základním fyzikálním a chemickým vlastnostem a jejich toxicitě. Obšírně se zabývala jejich metabolismem a to nejen o rostlin, ale

i u vybraných mikroorganismů a hub. V poslední části teoretického přehledu zdařile popsal různé typy fytořemediací a možnosti jejich využití. Poněkud bych se u této části disertace zastavil. S tím, že nitrolátky jsou významnou skupinou xenobiotik a že se využívají jako výbušniny či náplně do střeliva, nelze než souhlasit a jako poznámku o tom, že je to jeden ze zdrojů kontaminací prostředí, by tuto informaci určitě každý oponent uvítal. Uvádět však, do jakých skupin se výbušniny dělí (str. 16) v tomto typu práce určenou pro komisi anatomie a fyziologie rostlin jsem však považoval nebo chtěl považovat za test, zda jsem jako oponent práci četl celou. Tímto dokazuji, že ano, a konstatuji, že tyto údaje, byť se vztahují k nitrolátkám, jsou pro tento typ práce zcela zbytečné. Po tom, co se objevují další, nejrůznější informace o výbušninách včetně jejich komerčních názvů (str. 18, 19, 20, 21, 22), pociťoval oponent potřebu požití nízkou, netoxickou dávkou nitroglycerinu pro zachování alespoň adekvátního krevního tlaku, když už považuje tyto informace za neadekvátní a věnuje jim i neadekvátně mnoho prostoru v tomto posudku.

Do této kapitoly dizertační práce se vloudilo i několik nepřesností.

- v botanickém názvosloví stále používáme pojem „pletivo“, v textu se objevuje tento pojem i pojem tkáň (na mnoha místech);
- v botanickém názvosloví se nepoužívá termín „semenáček“, to je termín technologický (na více místech);
- v botanickém názvosloví ne všechno, co se sklízí nebo vysévá jsou semena, právě u kukuřice ani slunečnice tomu tak není (na více místech);
- není vhodné kombinovat český text s anglickými schématy (str. 13, 35, 37);
- „těžký kov nelze považovat za synonymum pro „toxický kov“ (str. 15);
- nelze používat výraz „váha“ a „váhový“ ve významu „hmotnost“ a „hmotnostní“ (na více místech);
- nelze považovat za plně prokázané, že se v rostlinách vyskytují metalothioneiny (str. 15);
- *Cyperus esculentus* není cypřiš (str. 32), zajímavé je, že na jiných místech je to už uvedeno správně;
- názvy rostlin jsou uváděny jsou uváděny nejrůznějšími způsoby např. jen rodové české jméno a v závorce za ním druhové jméno odborné a další kombinace, to nepřispívá k homogenitě práce (četná místa);
- co myslí autorka výrazem „obal semen“ – osemení, osemení a oplodí nebo ještě jiného? (str. 26);
-

- když je autorů více (vyjádřeno dvěma jmény nebo výrazem „a kolektiv“) mělo by se to obrazit i v příslušných dalších větných členech, především v přísudku, což se podařilo jen na málo místech;
- není správně užito zkratky sp. (str. 27);
- místo „patogenní resistance“ (str. 40) by mělo být „rezistence k patogenům“;
- nesprávné citování, odkazuje se na originální výsledky pracemi, které je přebraly (str. 41);
- *Fabaceae*, *Asteraceae*, *Poaceae* nelze označit jako druhy (str. 49), první dvě čeledi nemají s travami nic společného.

Následují cíle práce. Ty jsou formulovány jasně.

Kapitola „Materiál a metody“ odpovídajícím způsobem seznamuje v první subkapitole s použitým rostlinným materiálem a zároveň způsobem jeho přípravy pro kultivaci *in vitro* nebo pěstování v hydroponii nebo přirozených podmínkách. Musím podotknout, že jen s velkým nadhledem lze připustit, že se jednalo v daných případech o hydroponii, tedy rostliny kultivované v živném roztoku. To neznámá, že se do tohoto roztoku rostlina jen ponoří, jak se dělo v této práci, o čemž svědčí obr. 30 (str. 90). Žádám též autorku, aby osvětlila, jak vlastně kultivovala rostliny starčku přímětníku v tekutém mediu, protože z textu mi to nebylo zcela jasné. Obr. 12 (str. 60) nekoresponduje s textem, který na něj odkazuje.

Další subkapitoly se Mgr. Podlipná zabývá použitými metodami. Ty jsou popsány odpovídajícím a jejich použití bylo adekvátní k získávaným výsledkům. Je obdivuhodné, kolik metod Mgr. Podlipná dokázala zvládnout. (Mohla by autorka říci, jak využívala březové duše při řezech na mikrotomu?). V této subkapitole chybí zmínka o statistickém hodnocení pokusů, byť třeba základním.

Kapitole výsledky je věnováno více jak padesát stran. Je zde shromážděna široká škála výsledků počínající sledováním vlivu 2,4,6-trinitrotoluenu a 2,4-dinitrotoluenu na klíčení a růst vybraných druhů rostlin na kontaminované zemině i v laboratorních podmínkách, přes sledování degradačních procesů a produktů a studium vybraných enzymů, které se na této degradaci podílejí až po distribuci radioaktivně značených látek v průběhu příjmu a zřejmě i degradace. Všechny výsledky považuji za hodnotné a přínosné. Za zvláště cenné považuji studie věnované právě degradačním procesům, které vedou k vysvětlení detoxifikace sledovaných látek a tím k jejich odstranění ze životního prostředí. Autorka zde plně uplatnila všechny dříve popsané metodické postupy (a některé i navíc). Všechny pokusy vtipně postavila.

Přes nespornou kvalitu získaných výsledků se do jejich hodnocení vloudily (jak doufám) některé nedostatky. Často není uveden počet propagulí (semen, obilek, nažek), která byla při pokusech sledována. Pak následně chybí příslušná statistická hodnocení, která by alespoň minimálně ukázala na průkaznost výsledků. Bez toho jsou pak uvedené výsledky pouze orientační (např. sledování výše zmíněného vlivu 2,4,6-trinitrotoluenu a 2,4-dinitrotoluenu na klíčivost, ale i další pokusy). Žádám proto autorku, aby uvedené údaje o počtu vzorků ve všech případech doplnila při obhajobě a formou oprav je přidala i do dizertační práce. Jinde je počet propagulí uveden, ale podle zavedených zvyklostí není dostatečný (např. v subkapitole 1.1.2. 3x25 nedosahuje ani nejnižšího běžně používaného počtu 100 propagačních jednotek). Z formálních nedostatků kapitoly „Výsledky“ bych zmínil a požádal disertantku o vysvětlení resp. doplnění těchto údajů:

- co znamenají úsečky v grafech, kde jsou uvedeny a proč nejsou uvedeny všude;
- co znamená zkratka DM a FM v tabulkách, přičemž text je v češtině;
- v subkapitole 1.2.8. je uvedena velká odchylka v hmotnosti rostlin, nemohlo to ovlivnit získané výsledky?

Kapitola „Diskuse“ shrnuje získané výsledky a porovnává je s údaji, které popsali jiní autoři, tak jak se na tuto část disertační práci sluší a patří. Zde většinou oponent nemůže nic namítat, protože se má jednat o vlastní myšlenky autora práce. Myslím si, že tato kapitola v postatě splnila, co se od ní očekává. Dovolím si je jednu poznámku: na základě toho, že suspenzní kultura mydlice lékařské, která byla odvozena ze semen rostliny rostoucí na lokalitě zamořené 2,4,6-trinitrotoluen autorka usuzuje, že tato kultura je odolnější. Aby to bylo prokázáno, musela by existovat kontrola odvozená z rostlin získaných ze semen z nekontaminované lokality. Mám dojem, že se tak nestalo. Po formální stránce, je nezvyklé a nedoporučoval bych to dále využívat, že se v diskusi objevují faktické údaje, které nebyly uvedeny dříve, např. využití imunochemické metody. To patří jinam.

Seznam citované literatury je vypracován pečlivě až na to, že by měly být jednotně uváděny buď celé názvy periodik nebo jejich zkratky. Křížovou kontrolu citací oponent nepovedl v naději, že je to, protože se jedná o práci disertační a nikoli bakalářskou nebo diplomovou, v pořádku.

Po jazykové stránce je práce čtivá. Vyskytuje se jen minimum překlepů a gramatických chyb (chybějící interpunkční znaménka), a proto není třeba je konkrétně zmiňovat.

Po formální stránce nepůsobí dobře, že není jednotnost v množství odrazů na začátku odstavců. Dalším, v poslední době bohužel častým, nedostatkem je psaní jednopísmenových předložek samostatně na konci řádku, což pravidla českého pravopisu dosud nedovolují a

používaný počítačový program ne vždy upraví. Nelogické je též psaní čísel z chemických vzorců na konci řádku. Jinak je práce vzorem pečlivosti.

### **Celkové hodnocení:**

Předložená disertační práce přes uvedené nedostatky věcného i formálního charakteru odpovídá požadavkům kladeným § 47 zák 111/1998 Sb. kladeným na tyto práce. Mgr. Radka Podlipná zvládla práci s odbornou literaturou a značný počet náročných metodických postupů. Dokázala výsledky své práce zaznamenat, sumarizovat a zhodnotit. Prokázala tak připravenost k samostatné činnosti v oblasti výzkumu, a proto

**navrhuji práci k obhájení.**

V Brně dne 9. října 2006