

## **Oponentský posudek učitelské diplomové práce RNDr. Kláry Čihákové**

### **„Charakterizace změn vyvolaných expresí *cdc25* ze *Schizosaccharomyces pombe* související s urychlením kvetení“**

školitel: Doc. RNDr. Helena Lipavská, Ph.D.

Diplomová práce Kláry Čihákové shrnuje experimenty sledující projevy exprese kvasinkového mitotického aktivátoru *cdc25* v rostlinách tabáku, které souvisí s již dříve pozorovaným urychlením přechodu ke kvetení u takto transformovaných rostlin. Práce dále konfrontuje výsledky získané u tabáku s výsledky u *Arabidopsis* transformované stejným genem. Problematikou se dlouhodobě zabývá tým školitelky.

Předkládaná práce má velký metodický a experimentální záběr, zcela jistě nadstandardní pro učitelskou diplomovou práci a svědčící o velké pracovitosti studentky. Je evidentní, že shrnuje velké množství experimentální práce, řada experimentů včetně náročných kultivací a odběrů rostlinného materiálu byla provedena v několika opakováních. Na druhou stranu ze stejného důvodu působí občas lehce nezaostřeně. Práci by prospělo podrobnější a přesnější formulování cílů jednotlivých experimentů včetně očekávaného přínosu konkrétního experimentu k řešení stanovených cílů práce, které by čtenář našel již v úvodní části. V některých případech je shrnující informace k danému experimentu uvedena ve výsledkové části, někdy bohužel až v diskusi, což znesnadňuje orientaci ve výsledcích. Např. v části zaměřené na hledání možných rozdílů v expresi genů zapojených v regulaci kvetení, by bylo pro čtenáře příjemnější, pokud by v metodické nebo experimentální části našel stručné shrnutí, proč byly konkrétní geny pro detekci vybrány a jakou konkrétní úlohu v regulaci kvetení mají. Většinu těchto informací je sice možno v literárním přehledu po určitém úsilí najít a čtenář se je také následně dozví v diskusi. Uvedení dříve by však usnadnilo orientaci ve výsledkové části DP. Uvedená výtku však rozhodně není na překážku kladného hodnocení práce, která má potřebné formální náležitosti i úroveň a množstvím dosažených výsledků bohatě přesahuje nároky kladené na učitelské diplomové práce.

**Literární úvod** má přiměřený rozsah 25 stran a čtenáře vhodně uvádí do problematiky. Je pouze škoda, že autorka nezařadila žádnou obrazovou dokumentaci. Např. v části shrnující molekulární aspekty regulace kvetení by zařazení vhodného schématu usnadnilo orientaci v textu. Vhodným by mohlo být např. schéma z článku Srikanth a Schmid 2011, který autorka ve své práci cituje.

K této části práce mám jen drobný dotaz. Na str. 25 je shrnuto zapojení genů *CO* a *FT* ve vnímání fotoperiody a iniciaci kvetení u dlouhodobních rostlin. Během dlouhého dne dochází k akumulaci transkripčního faktoru *CO*, který následně stimuluje expresi mobilního *FT* (florigenu) nezbytného pro iniciaci kvetení. Při krátkém dni není *CO* dostatečně stabilizován a nedochází proto ke zvýšení jeho hladiny. Postrádám alespoň stručné nastínění, jak jsou oba geny zapojeny do regulace kvetení u rostlin krátkodobních. Platí představa nastíněná např. v práci **Hayama, R., and Coupland, G. (2004). The molecular basis of diversity in the photoperiodic flowering responses of *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiol.* 135, 677–684**, že u rostlin krátkodobních *CO* funguje jako represor kvetení, nebo má autorka po studiu literatury jiný názor? A související otázka, jaký regulační mechanismus stojí za akumulací *FT* během krátkého dne, ke kterému u krátkodobních rostlin dochází?

**Metodika a výsledky** jsou formulovány dostatečně podrobně a doplněny potřebnou obrazovou dokumentací i statistickou analýzou. Orientaci v metodické části trochu ztěžuje striktní rozdělení textu na dva celky - kultivace *in vivo* a *in vitro*. Výsledkem je např. trochu nelogické zařazení kapitoly 2.3.4. Stanovení doby potřebné k nástupu kvetení u *Arabidopsis*

mezi kapitoly zabývající se stanovením exprese genů a detekcí aktivity invertázy u tabáku. Uvedený způsob organizace metodické části komplikuje identifikaci jednotlivých experimentů či experimentálních tématických celků.

V části popisující odběr vzrostných vrcholů tabáku (kapitola 2.3.1.) bych také ocenila podrobnější rozvedení informace o odběru materiálu „ve vegetativní fázi vývoje na základě počtu vytvořených listů“. Podrobnější informace v tomto směru je důležitá pro další interpretaci výsledků. Z následné diskuze totiž vyplývá, že kontrolní a transformované rostliny byly odebírány při stejném počtu vytvořených listů, přestože ke kvetení přechází při velmi odlišném počtu internodií. Tato skutečnost jistě mohla ovlivnit aktuální genovou expresi. Autorka si je nicméně limitace v tomto směru vědoma a v diskuzi na straně 87 předkládá možné scénáře vztahu mezi změnami v expresi genů a vývojovým stavem rostlin v době odběru.

K výsledkové části práce dále jen několik drobných dotazů:

Jak vysvětlit přednostní barvení adaxiální strany řapíku při detekci aktivity invertázy? Je vysoká hladina invertázové aktivity v trichomech běžným fenoménem? Autorka také v komentáři zmiňuje existenci jiné, zřejmě pro kvantifikaci invertázové aktivity vhodnější metody. O jakou metodu jde? Nebylo možné ji v práci použít?

**Diskuse** na 14 stranách adekvátním způsobem zasazuje získané výsledky do širšího kontextu. Poněkud pesimisticky vyznívá skutečnost, že řada experimentů končí skeptickým konstatováním autorky o úskalích zvoleného metodického postupu. Tento fakt na jednu stranu dokládá schopnost autorky kriticky hodnotit získaná experimentální data. Na stranu druhou se vtírá otázka, zda by zúžení tématického záběru práce neposkytlo větší prostor pro optimalizaci metodiky.

Seznam literatury je obsáhlý a zahrnuje i velmi recentní práce, což svědčí o pečlivosti autorky při vyhledávání literárních zdrojů. Drobným formálním nedostatkem je nejednotné uvádění názvů časopisů (zkratky versus plná jména). V seznamu literatury také chybí citace prací uvedených v kapitole 2.6. o statistickém zhodnocení dat (např. Wilcoxon 1945 a další).

Celková **formální úprava** textu je velmi dobrá. Překlepy a nepřesnosti se vyskytují jen minimálně, i když se bohužel nevyhnuly např. seznamu zkratk (viz. 2,4-D nebo WEE 1). Určitou opatrnost bych ocenila při používání některých formulací, byť uvedených s nadsázkou v uvozovkách. Např. str. 89, kde autorka konstatuje, že „signalizace přes CO může „přebít“ případnou změnu v jiných drahách..

Žádné z výše uvedených výtek či dotazů nesnižují celkovou kvalitu práce, která po všech stránkách splňuje nároky kladené na učitelské diplomové práce. **Navrhuji proto její přijetí k obhajobě a udělení známky výborně.**

V Praze dne 10.9.2012

RNDr. Edita Tylová Ph.D.  
Katedra experimentální biologie rostlin