

Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: Mgr. Zuzana Lhotáková Ph.D.

Datum: 31. 8. 2016

Autor: Bc. Iveta Dvořáková

Název práce:

Adaptace rostlin rodu *Plantago* k abiotickému stresu: mechanismy tolerance

Cíle práce

Hlavní cíl práce je definován jako charakterizace odpovědi vybraných zástupců rodu *Plantago* na abiotický stres (sucho, zasolení, chlad a jejich kombinace). Stresová odpověď byla sledována pomocí růstových parametrů a akumulace kompatibilních solutů (zejména nestrukturních sacharidů a prolinu) u 2 halofytních a 1 gykofytního druhu. Hlavní cíl je rozvinut do šesti dílčích cílů a jsou formulovány testovatelné hypotézy.

Struktura (členění) práce

Rozsah práce: 77 stran, klasické členění, dobrá vyváženost kapitol.

Práce obsahuje anglický i český abstrakt a relevantní klíčová slova.

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

Formální úroveň práce je vysoká. Práce je jednotně, přehledně a pečlivě formátována; výsledky jsou doplněny vlastními fotografiemi pokusného materiálu ve vysoké kvalitě. Bohužel nižší kvalitu mají převzaté grafiky v literárním úvodu (např. v obrázku 2 str. 8 označení radikálů hvězdičkou je špatně vidět v elektronické i tištěné verzi). Prezentace vlastních výsledků pomocí grafů a fotografií je přehledná, srozumitelná a kvalitní. Objevila jsem pouze 1 nečíslovaný obrázek (Kalibrační křivka prolinu) bez odkazu v textu na str. 25.

Seznam literatury čítá 110 citací, je řazen dle abecedy a má jednotný formát.

Logická stavba a jazyková úroveň práce

Práce je psaná kvalitní odbornou češtinou s minimem překlepů, pozůstatků po editaci či neobratných formulací. Práce má dobrou logickou strukturu, cíle jsou jasně formulovány na začátku práce a zasazeny do širšího kontextu.

Literární přehled:

Literární přehled odpovídá tématu, shrnuje fyziologické reakce rostlin na vybrané abiotické stresy (zasolení, sucho, chlad) a jejich kombinace. Poskytuje přehledné teoretické zázemí týkající se role vybraných kompatibilních solutů v reakci na zmíněné abiotické stresy.

V seznamu literatury jsou zastoupeny původní práce od 70. let do aktuálních prací z posledních 3 roků. Rozsah a výběr citované literatury považuji za adekvátní.

Při náhodné kontrole jsem našla v seznamu literatury tyto nesrovnalosti: 3 práce byly uvedeny v seznamu a nebyl na ně odkaz v textu, jedna práce byla uvedena v textu, v seznamu nikoliv:

nenalezeno v textu:

- Strand, A., Foyer, C.H., Gustafsson, P., Gardestrom, P. & Hurry, V. (2003). Altering flux through the sucrose biosynthesis pathway in transgenic *Arabidopsis thaliana* modifies photosynthetic acclimation at low temperatures and the development of freezing tolerance. *Plant Cell & Environment*, 26, 523-535.
- Yancey, P.H. (2005). Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology*, 208, 2819–2830.
- Rivero, R. M., Mestre, T. C., Mittler, R., Rubio, F., Garcia-Sanchez, F., & Martinez, V. (2014). The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. *Plant, Cell & Environment*, 37, 1059-1073.

nenalezeno v seznamu literatury

- Vicente et al., 2005 – (jen Vicente et al. 2004)

Materiál a metody:

Šíři použitých metodik považuji za vyhovující. Studentka úspěšně zvládla pěstování rostlin *in vitro* ve sterilních podmínkách, vypracovala dosud nepoužívaný postup pro vegetativní množení zástupců rodu *Plantago* z kořenových segmentů *in vitro*. Z biochemických metod zvládla stanovení obsahu nestrukturních sacharidů a stanovení obsahu volného prolinu. Popsané metody odpovídají prezentovaným výsledkům.

Metody jsou srozumitelně popsány, doplněny přehledným shrnutím experimentů. Popis některých kultivačních podmínek považuji však za příliš stručný – např. u experimentu zaměřeného na kombinaci stresu zasolením a nízkou teplotou je pouze popsáno: „*chlada, působení po 14. dnech od přesazení*“ – tuto formulaci považuji za velmi stručnou – podrobné podmínky kultivace (10°C v temné periodě) je uvedeno až v kapitole Výsledky (str. 38). Považovala bych za vhodné uvést tyto údaje u kultivačních podmínek či u popisu experimentu v kapitole Materiál a metody.

Experimentální část:

Experimentální část považuji za zdařilou. Cíl experimentů je vždy vysvětlen, výsledky dokumentovány v grafech se statistickým vyhodnocením. Množství experimentů považuji za dostačující. K designu některých experimentů prosím o dodatečné vysvětlení – viz. Otázky.

Diskuze:

Vlastní výsledky jsou diskutovány, porovnávány s relevantní literaturou. V průběhu diskuze autorka navrhuje případnou úpravu experimentů. Jak v diskuzi tak při prezentaci vlastních výsledků oceňuji pokus o identifikaci zatím neznámé frakce sacharidů, které se zřejmě významně podílejí na stresové odpovědi vybraných druhů jitrocele, a návrhy dalšího postupu na pokračování v této problematice.

Závěry (Souhrn):

Na konci práce jsou v bodech uvedeny závěry vyvozené na základě prezentovaných výsledků. Ocenila bych však ještě závěr v podobě souvislého textu, který by nejdůležitější výsledky zasadil do širšího kontextu a stručně naznačil další směr výzkumu.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Vytčené cíle práce považuji jednoznačně za splněné a práci hodnotím velmi kladně. I přes to (viz Otázky a připomínky) navrhuji celkovou klasifikaci mezi Výborně a Velmi dobře.

Otázky a připomínky oponenta:

- Jako experimentální materiál byly zvoleny 3 druhy rodu *Plantago* s různou tolerancí k zasolení. V práci postrádám informace o přirozeném areálu výskytu u zkoumaných druhů, prosím o doplnění při reakci na posudek. K tomu se váže otázka – ví se, jak jsou si Vámi vybrané druhy fylogeneticky blízko?
- **RTOS** – není v seznamu zkratk, z abstraktu se dozvíme, že jde o „*zatím blíže necharakterizovanou frakci sacharidového spektra*“. Nikde však není uvedeno, z čeho zkratka pochází a proč byla zvolena. Vysvětlení, že šlo hypoteticky o sacharidy rafinózové řady si počkáme do str. 55 v kapitole Výsledky. Avšak ani zde není označení frakce vysvětleno. Prosím o doplnění do seznamu zkratk s vysvětlením zkratky do tištěné verze práce a Errata pro elektronickou verzi.
- V metodách je v popisu experimentů uvedeno na str. 27-28: „*přesazení (pouze prýty)*“, ve výsledcích je uvedena analýza prýtů i kořenů. Měly již přesazované rostliny kořeny, které byly odstraněny, a přesazen byl pouze prýt? Pokud ano, proč se tak postupuje?
- Str. 32, Graf 1C: bylo provedeno u obsahu vody statistické vyhodnocení? Počet vzorků by to umožňoval stejně tak jako u předchozích růstových parametrů.
- Obrázky 5,6,7 – proč není zařazena i varianta Sun cap? Jak rostliny vypadaly?
- Proč bylo zvoleno působení chladem na rostliny pouze po 3 dny? V pracích zabývajících se mrazovou tolerancí *Plantago lanceolata* (Skinner 2005, nebo Skinner a Stewart 2014) probíhá

chlادové otužování až 3 týdny. Sama pak v diskuzi navrhuje prodloužení chlادového působení.

- Složení sacharidového spektra významně záviselo na sacharidovém zdroji v médiu – proč nebylo provedeno na rostlinách ve variantě Sun cap? Považovala bych je za nejbližší k rostlinám *in natura*. Máte hypotézu, jak by sacharidové spektrum u této varianty vypadalo? Jak technicky náročné by bylo provést analýzu na ex-vitro převedených rostlinách (zkoušela jste experimentální materiál převést ex-vitro?)
- V závěru práce tvrdíte že: „Sorbitol a sacharóza jsou srovnatelnými zdroji energie u všech druhů jitrocele *P. eriopoda*, *P. maritima* i *P. lanceolata*.“ (str. 68). To je jednoznačně podloženo výsledky růstové analýzy prezentované v grafech 1A, B, D, E. Z prezentace výsledků Tukey-Kramerova testu usuzuji, že do statistické analýzy vstupovalo 15 „nezávislých“ skupin vzorků (kombinace 3 druhy x 5 zdrojů energie). Je tomu tak? Proč nebyla reakce na vliv zdroje C a E tří zkoumaných druhů testována zvlášť? Považuji za vhodnější v tomto případě hodnotit vliv zdroje uhlíku a energie pro každý druh zvlášť – reakce může být druhově specifická! Pochybuji, že v takovém případě dospějete ke stejnému závěru: např. u *Plantago eriopoda* – tipuji, že akumulace sušiny prýtu či čerstviny kořene bude na médiu se sacharózou průkazně nižší než na médiu se sorbitolem.
- V diskuzi na str. 62 tvrdíte, že v podmínkách s víčkem Sun cap „K nárůstu čerstvé hmotnosti však dochází jen u rostlin *P. lanceolata* a *P. eriopoda*, kde je růst srovnatelný na médiu se sorbitolem (u *P. lanceolata* i se sacharózou), rostliny *P. maritima* na tento způsob kultivace nereagují srovnatelným způsobem.“ – avšak na základě prezentovaných výsledků Tukey-Kramerova testu (grafy 1A, B, D, E) všechny tři druhy nevykazují signifikantní rozdíl v suché a čerstvé biomase prýtu i kořene mezi variantami Sorbitol a Sun cap v rámci druhu. Na čem je tedy postaven Váš závěr? Pokud aplikujete analýzu rozptylu a následný srovnávací test na data získaná pouze pro *Plantago maritima*, předpokládám, že výsledky testu podpoří Váš závěr o nižším přírůstu rostlin pod víčkem Sun Cap.
- Obdobně u akumulace prolinu halofytním a glykofytním druhem nepovažuji za vhodné vyhodnocovat míru akumulace prolinu pro oba druhy dohromady. Jaký je důvod, proč ano?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: