

Posudek oponenta na bakalářskou práci studentky Biologické fakulty JU

Karolíny Stárkové

***“Studium vlivu cytokininu isopentenyladeninu na regenerační proces
in vitro kultur rododendronů”***

Předmětem předložené bakalářské práce bylo ověření možnosti regenerace rostlin z listových explantátů pěti vybraných odrůd rododendronů a na základě poměrně rozsáhlého skříninku, prováděného na syntetických médiích doplněných různými kombinacemi a koncentracemi růstových látek (RL), vytypování vhodných odrůd a médií pro další výzkumné záměry laboratoře. Práce je součástí dlouhodobé koncepce pracoviště školitelky směřující mimo jiné k cílené transformaci okrasných rostlin. Vychází tedy z dobré metodické i vědomostní základny, která se příznivě odráží v koncepci a kvalitě bakalářské práce.

Literární přehled stručnou a výstižnou formou seznamuje čtenáře se základní biologickou charakteristikou rodu *Rhododendron*, okruhem RL nejčastěji využívaných v technikách explantátových kultur, problematikou mikropropagací a současným stavem jejich rozvoje u rododendronů. Vzhledem k tomu, že se jedná o jedno z prvních odborných pojednání autorky, je nasnadě, že se zcela nevyvarovala některých nedůsledností, nepřesností a omylů zejména při přejímání poznatků jiných autorů. V české odborné literatuře by měl být používán pro pokrytí celé šíře technik kultivací rostlin a jejich částí v podmínkách *in vitro* termín „explantátové kultury“, na rozdíl od anglosaské terminologie je u nás pojem „tkáňové kultury“ zúžován na kultury nediferencovaně rostoucích pletiv a buněk (kalusové, suspenzní a buněčné kultury). Některá z autorčiných tvrzení vyžadují upřesnění, jako např. „Cytokininy stimulují buněčné dělení (cytokinezi) a elongaci (čeho?)“, viz str. 3, 2. odstavec shora. Jindy, v důsledku nedůslednosti je čtenář mylně informován: „Dalšími auxiny využívanými v mikropropagaci jsou například benzyladenin (BA) a kyselina indolyl-3-máselná.“ (str. 3, 1. odst. shora) či “Zjistili, že médium obsahující TDZ ...mělo celkem vysokou procentuální úspěšnost v počtu regenerovaných disků, ...”. Bezpochyby ne zcela správně je interpretováno sdělení Pavingerové et al. (1997), že “Využití metod regenerace mikropropagací z meristematičtých pletiv je však pro genetickou transformaci problematické, jelikož vlivem přítomnosti meristematičtých pletiv dochází velmi často k tvorbě chimérických transgenních rostlin...” (str. 4, 4. odst. shora). Přítomnost meristematičtých pletiv je naopak nástrojem k uchování (konzervaci) genotypu rostliny. Navíc, k mikropropagacím bývají nejčastěji využívány vzrostné vrcholy, jež obsahují mj. apikální meristémy, a osní řízky s laterálními meristémy. Daná část proto заслужuje objasnění, stejně jako tvrzení “K největší regeneraci docházelo na Andersonově médiu,...” (str. 4, 3. odst. shora). Doslovný překlad či přejímání

tvrzení zahraničních autorů neskýtá vždy záruku správného postižení skutečnosti. Například “Způsoboval růst s dostatečnou délkou.” (str. 5, odst. 3), “(ty obsahovaly vždy vaječník s pestíkem)” (str. 5, odst. 4).

Kapitola Materiál a metodika je uvedena dostatečně podrobně, tabulky složení testovaných variant médií jsou přehledné a umožňují dobře se orientovat ve velkém počtu modifikací. Doporučoval bych pouze pro příště přesněji specifikovat velikost použitých listových explantátů - “Větší listy jsem stříhala na polovinu, menší listy...”. Poněkud překvapuje skutečnost, že pokusná schémata zahrnovala vždy jen dvě misky na jednu odrůdu, bez dalšího opakování v průběhu určitého období. Takové uspořádání může sloužit k rychlému předběžnému otestování mnoha pokusných variant, jak tomu bylo v daném případě, nezaručuje však dostatečnou reprodukovatelnost, možnost základního statistického vyhodnocení a ani publikovatelnost výsledků. Překvapivě, vzhledem k rozsahu skříninku, není v metodice ani výsledkové části zmínka o výskytu kontaminací, zda a jakým způsobem byly chybějící varianty doplněny. Jen v základním uspořádání pokusu s 29 variantami živných médií, při 20 listových explantátech na variantu a pěti odrůdách muselo být pěstováno minimálně 2900 listových řízků.

Výsledky jsou logicky a přehledným způsobem uspořádány do tabulek a doplněny výstižným komentářem. K dané části mám pouze několik dílčích připomínek. V oddílu 4.1. uvádějícím výsledky získané při práci s cv. Eva by mělo být tvrzení na 4. řádku uvedeno přesněji, např. „Vyšší frekvenci regenerace výhonů jsem zaznamenala pouze na médiích 8/3 a 10/2“, vzhledem k tomu, že jejich regenerace byla pozorována i při kultivacích na médiích 8/5 a 9/2 – viz. tab. 5. Řazení jednotlivých snímků u některých složených obrázků (obr. 1, 4, 5, 7) je uváděno poněkud chaoticky, např. u obr.1 nejdříve varianta na médiu 10/2 a poté varianta 8/3 apod. Část věnovaná diskusi je adekvátní svým rozsahem a hloubkou použité metodice a získaným výsledkům. Na straně 24 je dvakrát nepřesně uvedena citace Thomsons a Gertnere (2001), včetně nesprávně uvedených koncovek v první zmínce. V práci je na více místech používán termín regenerace, který bez doplnění o jaký orgán se jedná, případně i kvantifikace (frekvence, četnost, případně míra regenerace), je prázdným pojmem či dokonce zavádějící – viz např. úvodní věty 4. a 5. odstavce na str. 23, 4. řádek shora na str. 24 („Testovala jsem vliv rostlinných hormonů na regeneraci listových disků.“, „Většina médií, na kterých jsem testovala regeneraci a tvorbu kalusů...“, „Velikost kalusu i regenerace se ukázaly...“).

Na druhé straně je třeba ocenit rozsah a význam práce Karolíny Stárkové pro další rozvoj problematiky, stejně tak skutečnost, že daná bakalářská práce splnila svůj účel.

Autorka se dostatečně orientovala v odborné literatuře související s řešenou problematikou, zvládla potřebné základní metodické postupy pro případné pokračování a využití práce. Závěrečná redakce bakalářské práce byla provedena značně pečlivě. V celé práci je jen velmi málo překlepů či drobných nesrovnalostí. Obrazová dokumentace je kvalitní. Autorka v omezeném časovém limitu daném dobou od zadání práce otestovala regenerační schopnost v podmínkách *in vitro* pěti odrůd rododendronů na velkém množství variant kultivačních médií a získala výsledky srovnatelné s jinými autory. Za významné z hlediska dalšího rozvoje problematiky i potenciální využitelnosti považuji zejména potvrzení možnosti využít listové řízky vybraných odrůd rododendronů k regeneraci rostlin a vtypování vhodných variant kultivačních médií.

Vzhledem k tomu, že bakalářská práce Karolíny Stárkové po všech stránkách splňuje požadovaná kritéria, plně ji doporučuji k obhajobě. Práci hodnotím jako kvalitní a přínosnou a doporučuji ji klasifikovat známkou **výborně**.

V Českých Budějovicích, dne 31.5.2006



RNDr. Slavomír Rakouský, CSc.
katedra genetiky Biologické fakulty,
Zdravotně sociální fakulta JU
České Budějovice