



BIOLOGY CENTRE CAS

Institute of Plant Molecular Biology

address: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

IBAN – CZ88 5500 0000 0050 0220 9089 | SWIFT CODE – RZBCCZPP | VAT No.: CZ60077344

phone: +420 387 775 525 | fax: +420 385 310 356 | www.umbr.cas.cz | e-mail: umbr@umbr.cas.cz

Posudek oponenta na magisterskou práci

Autorka: **Bc. Tereza Kalistová**

Název práce: **Dynamika obnovy epikutikulárních vosků na listech rostlin *Clusia rosea***

Vedoucí práce: prof. Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Oponentka práce: Ing. Marie Hronková, Ph.D.

Magisterská práce Terezy Kalistové studuje rychlost obnovy epikutikulárních vosků v závislosti na stáří listů a mechanickém poškození vrstvy epikutikulárních vosků. Rostlinná kutikula jako produkt epidermis představuje důležité rozhraní mezi vnitřním prostorem rostliny a prostředím, v němž rostlina žije a jemuž se musí vzhledem k přisedlému způsobu života dobře přizpůsobit. Kutikula jako evoluční adaptace k životu na souši chrání rostlinu před nepříznivými podněty abiotického i biotického charakteru. Pochopení mechanismů tvorby a obnovy vosků má význam nejen pro základní výzkum, ale potenciálně i pro šlechtění rostlin zdravějších či odolnějších k suchu.

V úvodu jsou jasně a srozumitelně formulovány 3 hypotézy: 1) k obnově vosků dochází v průběhu celého života listu, 2) u mladších listů je obnova vosků rychlejší a 3) odstranění vrstvy epikutikulárních vosků z povrchu listu obnovu vosků urychlí.

Úvodní, rešeršní část práce je čtivá a jednotlivé podkapitoly na sebe logicky navazují. Je rozdělena do dvou částí. 38 stran textu představuje aktuální a ucelený pohled na řešenou problematiku s využitím informací z úctyhodného počtu 182 citovaných prací. První část se týká kutikuly, evolučních aspektů vývoje rostlinné kutikuly, její struktury a chemického složení, jejích převážně ochranných funkcí v životě rostliny, a také procesů syntézy a obnovy rostlinné kutikuly. Druhá část se zabývá stabilními izotopy, konkrétně stabilním izotopem uhlíku ^{13}C a principy a metodami jeho analýzy, které mají poskytnout odpověď na otázky, které si autorka ve své práci klade. Tato část obsahuje i vzorce pro výpočty parametrů, jež jsou použity v experimentální části práce. Zde bych možná zvážila zařazení těchto informací spíše do kapitoly Materiál a metody.

Klíčovou metodou je značení stabilním izotopem uhlíku ^{13}C . Cílem práce je zjistit zda dochází k přirozené obnově vosků, odhadnout, jaká je rychlost tohoto procesu a jak je ovlivněna mechanickým poškozením vosků na povrchu listu. Většina experimentů využívá vytrvalé rostliny *Clusia rosea*, ale pro srovnání byla použita také jednoletá *Brassica oleracea* var. *Italica* (brokolice). Metodiky a postupy zahrnují popis materiálu a experimentů včetně značení stabilním izotopem a schéma vzorkování, analýz izotopů v rostlinné biomase i v kutikule, gazometrická měření a statistické zpracování dat. Jsou popsány vcelku podrobně a srozumitelně.

Výsledky pokusů a analýz jsou představeny na cca 15 stranách, kromě textu obsahují 11 grafů a 2 tabulky, v příloze jsou pak ještě další 4 grafy. Získané výsledky jsou diskutovány v samostatné kapitole na čtyřech stranách a shrnuty do tří bodů závěru jež v prvních dvou bodech v zásadě potvrzují v úvodu formulované hypotézy. Odpověď na třetí hypotézu je komplikovanější, byla potvrzena u mladých listů, u těch „zralých“, kde je obnova epikutikulárních vosků pomalejší došlo ke zpomalení.

Poznámky a doporučení :

První, **teoretická část práce**, je zpracována velmi pečlivě a dokazuje schopnost výborně pracovat s literaturou a promyšleně vystavět „vědecký příběh“ (Nalezla jsem jen pár drobných nedostatků v textu).

„Kutikula, typicky 1-10 μm **široká**...”- str. 4 – předpokládám, že se myslí tloušťka kutikuly

Co je myšleno termínem „**emergence**“ ve smyslu povrchová struktura? (str.4 astr.14)

a co je „strukturní komplexita kutikul“ (str. 6) ?

Trochu neobratná věta :“ Kutikulární vrstva se vytváří ve vývoji kutikuly o něco později pod vlastní kutikulou.“ (str.7)

Kapitola 1.3. by se přesněji mohla jmenovat spíše Chemické složení kutikuly než jen „ Složení kutikuly“.

Formální nedostatek: index na novém řádku (str. 12).

Logicky nesmyslné tvrzení: „**Snížení permeability** pro chemické látky vede k **menší nepropustnosti** kutikuly...“ (str.16)

„Dřívější studie také **měřili**...” (str. 33) (překlep či gramatická chyba?)

Praktická část práce se potýká s většími problémy.

V grafech obecně mi chybí vyznačení statistických významnosti rozdílů v rámci získaných dat.

V Obr. 12,13,15,16,17,18,19 by variabilita získaných hodnot měla být vyjádřena např. pomocí směrodatné odchylky průměru (SD). Obrázky s jejich legendou by měly být samo vysvětlující.

V popisu k Obr. 14 se uvádí: „...Bod znázorňuje medián, značí průměr...” Co tedy bod v tomto grafu ve skutečnosti představuje?

Na str. 53 by v textu odkazujícím na Obr. 13 A měl být uveden i Obr. 12, který zachycuje vývoj relativního zastoupení uhlíku ^{13}C v čase bezprostředně po značení.

Jaký je rozdíl mezi Obr. 13 a P2? Dle mého názoru P2 je barevná verze obr. 13 s doplněnou variabilitou dat (SD).

Tab. 3 (str 64) a Obr. P3 (str. 90) obsahuje číselné a grafické zpracování stejných dat, proč?

Str. 65 odkaz na Obr. 19 by měl být správně odkaz na Obr. 20.

V diskusi autorka sice na začátku uvádí řadu prací, které se obnovou vosků zabývají, zcela ale chybí konkrétní srovnání publikovaných dat s vlastními, což je podstatou diskuse.

Dotazy do diskuse:

1. V legendě k Obr. 10 je jako hodnota n (počet pozorování) pro stanovení hustoty průduchů uvedeno číslo 68. Předpokládám, že jde o jednotlivé plošky $0,130\text{mm}^2$. V metodice je uvedeno, že v každém odběru (je jich 9) se odebíralo 16 listů v každé kategorii, tedy 4 z každé ze čtyř rostlin. Z každé abaxiální kutikuly (8?) bylo pořízeno 5 snímků, na nichž byla hustota průduchů určena. Ale z popisu v kapitole Výsledky není zřejmé, jestli se jedná o abaxiální stranu listu ani listy z kterých odběrů byly zahrnuty (kontrolní nebo i ty s porušenými vosky?). Větší variabilita u mladých (Y) listů se přičítá výraznější změně v průběhu experimentu. Přitom ale statisticky nebyl zjištěn rozdíl mezi termíny odběru. Mohla by autorka vysvětlit, jaké vzorky byly do analýzy zahrnuty?

2. Jak je to s frakcí uhlíku ^{13}C v epikutikulárních voscích (str. 59, Obr. 16 a str. 60 Obr. 17 B)? Autorka na str. 59 píše: ...“Pokud by epikutikulární vosky rostliny přijaly všechny ^{13}C obsažený v pletivech daného listu, jejich frakce by byla rovna 1.“ Jenže ona nejen že „...se téměř rovnala či byla blízká hodnotě 1.“, ale hodnotu 1 dokonce překročila. Má pro to autorka vysvětlení, respektive, které z těch uvedených v diskusi na str. 69 považuje za nejpravděpodobnější?
3. Jak si autorka vysvětluje rozdíl mezi spočtenou a gazometricky naměřenou rychlostí fotosyntézy?

Závěr:

Přes výše zmíněné nedostatky zcela splňuje dle mého názoru předložená práce požadavky na kvalitní magisterskou práci a doporučuji ji k obhajobě. Navrhuji hodnocení velmi dobře.

V Českých Budějovicích 12. 1. 2022

Ing. Marie Hronková Ph.D.