

HODNOCENÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Téma diplomové práce: **Rozhovory přes kutikulu: Molekulární aspekty interakce ve vývoji průduchů a syntéze vosků v kutikule**

Jméno a příjmení studenta: **Bc. Simona Koutková**

Diplomová práce obsahuje literární rešerši na téma kutikula a molekulární aspekty její syntézy, a přináší přehled transkripčních faktorů s bližším zaměřením na *SHINE* (*SHN*) rodinu. Cílem práce bylo ověřit hypotézu, že jsou *SHN* geny zapojeny do společné části dráhy vývoje průduchů a kutikuly, a že zvýšená či snížená míra exprese *SHN* genů bude mít vliv na množství průduchů a vosků na listech huseníčku. Experimentální část práce je zaměřena na identifikaci homozygotních rostlin v *SHN* genech, analýzu exprese *SHN* genů, a popis fenotypů z hlediska obsahu vosků v kutikule a počtu průduchů na listu. Provedeno také bylo srovnání relativní exprese dalších genů zapojených do vývoje průduchů a kutikuly listu.

Téma práce je aktuální a metody použité pro výzkum jsou vhodně zvolené. Kombinace molekulárního a fyziologického přístupu vede ke komplexnímu pochopení problematiky regulace vývoje průduchů a kutikuly. Také hypotézy a cíle práce jsou vhodně formulované.

V úvodu je dobře popsáno, čím se práce zabývá, a autorka také zmiňuje, že se jedná o výzkum navazující na výsledky publikované v její bakalářské práci.

Teoretická část je zpracována na vysoké úrovni. Téměř každá věta je podpořena citací zahraniční odborné literatury. Kapitoly na sebe vhodně navazují a dávají dobrý přehled o problematice řešené v experimentální části práce. Objevují se drobné překlepy, nejednotné názvosloví enzymů, případně proměnlivé označení jednoho pojmu (ekotyp Wasilevskija vs. Wassilewskija). Neúplný je také seznam zkratek, který je zařazen na začátek práce; v textu jsou také poměrně často vedle sebe české i anglické výrazy, které mohly být vyřešeny zahrnutím do seznamu zkratek a mohla tak být používána pouze zkratka nebo český výraz. Po jazykové stránce mám menší výtku k použití termínu kryoelektronová mikroskopie v dalších částech práce, kdy je tento pojem často psán jako Kryo – elektronová mikroskopie (s velkým K na začátku a s mezerami mezi slovy). Nicméně tyto nedostatky nemají vliv na odbornou úroveň textu.

Část práce věnovaná materiálům a metodám je zpracována velmi podrobně a přehledně. Volba modelové rostliny huseníčku rolního je jednoznačně dána molekulárním zaměřením práce. Vzhledem k použitým metodám musela autorka prokázat vysokou míru osvojení si správné laboratorní praxe. Text je psán srozumitelně a přehledně, s drobnými výjimkami u některých formulací, např. „Produkty v obou reakcích označoval heterozygota“ (str. 23), nebo „Nakonec byl list cca na 1 až 2 min pokoven směsí platiny a palladia při teplotě 140 °C“ (str. 25), či „Ke stanovení bylo potřeba nejdříve vyextrahovat total RNA.“. V případě používání jednotek se občas vyskytla chybějící mezera mezi číslem a jednotkou, použití symbolu hvězdičky

u složených jednotek nebo např. v tab. č. 4. špatné vyjádření času v minutách (v prvním řádku správně uvedeno 12, v dalším řádku již 0:15). Jedná se však o drobnosti.

Vyzdvihují vhodně zvolenou kombinaci molekulárních metod, stopové analýzy a mikroskopie, které se doplňují a umožňují tak nahlížet na téma z různých pohledů, kdy je zjištění míry exprese genů podpořeno pozorováním konkrétních znaků u rostlin.

Výsledky jsou dobře graficky zpracovány. Kladně hodnotím množství příloh, které doplňují výsledkovou část. Popis výsledků je zaměřen na relativní hodnoty, tj. srovnání mutantních linií s kontrolou. U výsledků, ve kterých byly získány absolutní hodnoty, by bylo vhodné zmínit také v textu průměry či rozmezí hodnot, které daný parametr nabývá, a to i přesto, že lze tyto hodnoty vyčíst z grafů. Pro srovnání absolutních hodnot mezi pracemi různých autorů mohou být i tyto údaje velmi cenné a z grafu nemusí být odečteny přesně.

V části věnované diskuzi autorka velmi podrobně rozebírá výsledky a dává je do kontextu s dostupnými literárními zdroji. Musím ocenit velmi vysokou úroveň diskuze. Autorka je v diskuzní části také dostatečně kritická k vlastním výsledkům, které ne vždy odpovídají publikovaným pracím, a zmiňuje také malý počet opakování, který je velmi problematický pro statistické vyhodnocení výsledků. Je však zřejmé, že vzhledem k vysoké ceně, časové náročnosti a množství provedených analýz byl volen alespoň minimální počet opakování. I přesto práce přináší cenné informace o vlivu *SHN* genů na vývoj průduchů a kutikuly.

Závěry práce reflektují cíle práce a je z nich patrné, že cíle práce byly splněny. Celkově diplomovou práci hodnotím jako výbornou.

Doplňující otázky:

1. Vzhledem k malému počtu opakování je velmi těžké zhodnotit statisticky průkazný rozdíl mezi jednotlivými variantami. Zkoušela jste graficky vynést závislost mezi hustotou průduchů a obsahem vosků napříč všemi vzorky?
2. Volba modelové rostliny huseníčku je výborná pro metody molekulární biologie, z pohledu fyziologie rostlin je to však spíše problematický druh, který má velmi tenkou kutikulu a s tím související nízký celkový obsah vosků. V popisu GC-MS metody neuvádíte limity metody pro detekci a kvantifikaci. Jakou koncentraci alkanů jste detekovali přímo v roztoku smytých vosků? Zjišťovali jste, jaké je poměrné zastoupení alkanů vůči sumě vosků zjištěných například gravimetricky?
3. Jak si vysvětlujete relativně výrazný rozdíl v SI u druhého pěstování mezi adaxiální a abaxiální stranou listů Col-0?
4. Bylo by možné, vzhledem ke komplexnímu molekulárnímu přístupu zahrnujícímu větší množství zkoumaných genů, schematicky či tabulkou znázornit zjištěné relativní exprese u všech vámi zkoumaných genů?

V Ostravě dne 16. 5. 2023

Mgr. Martina Vráblová, Ph.D.