

Posudek oponenta na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Štefan Šatka

Název práce: Funkcia oxidu dusnatého v signálnych dráhach kyseliny salicylovej v odpovedi rastlín na teplotný stres

Oponent práce: RNDr. Lenka Dzurová, Ph.D.

Poř. číslo	Kritérium hodnocení	Body (0-5)
1	Ucelenost a aktuálnost rešeršní části práce	5
2	Kvalita úvodní části práce (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	5
3	Naplnění cílů práce	5
4	Logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci	4
5	Úplnost popisu používaných metodik a postupů	5
6	Úroveň zpracování výsledků (vhodné používání grafů a tabulek atd.)	4
7	Adekvátnost interpretace získaných výsledků a jejich diskuse	5
8	Výstižnost souhrnů práce v českém a anglickém jazyce	5
9	Grafická úprava textu a obrázků	4
10	Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	3
11	Správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	4
12	Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	4
Celkem bodů		53

max
60

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list)

Diplomová práce Štefana Šatky vo svojej teoretickej časti popisuje najnovšie poznatky o rôznych obranných mechanizmoch rastlín proti teplotnému stresu so zameraním na úlohu signálnych dráh oxidu dusnatého a kyseliny salicylovej.

Cieľom experimentálnej časti bola optimalizácia metód stanovenia hladiny NO a metabolitov reaktívnych foriem dusíka v listoch modelových rastlín (rajčiaka jedlého *Solanum lycopersicum* L. kultivar Amateur a divokého typu *Arabidopsis thaliana*) vystavených teplotnému stresu a pôsobeniu fytohormónu kyseliny salicylovej.

Aj napriek množstvu gramatických a stylistických chýb, ktoré uvádzam vo forme pripomienok, predstavuje diplomová práca solídny zdroj vedeckých poznatkov, z ktorých je možné vychádzať pri návrhu ďalších experimentov na exaktné objasnenie zmien v hladinách NO účinkom kyseliny salicylovej, lapača NO a donora NO počas teplotného stresu. Prípadne zopakovať niektoré experimenty, čo nebolo v dôsledku komplikovanej epidemiologickej situácie možné. Veľmi dobre bola napísaná diskusia nameraných výsledkov, kde sú zhrnuté

všetky ďalšie možné postupy nevyhnutné na potvrdenie/objasnenie signálnych dráh oxidu dusnatého.

K predkladanej práci mám nasledovné pripomienky a otázky:

Pripomienky:

- 1) V obsahu úplne chýbajú kapitoly štvrtej úrovne ako napríklad: 2.4.3.1, 2.7.4.1... Prečo je tomu tak?
- 2) V teoretickej časti sa veľmi často vyskytujú veľmi dlhé vety aj na 5 a viac riadkov. Do budúca by bolo lepšie takéto vety preformulovať a zjednodušiť. Stratil sa v nich občas dokonca aj sám autor. Text tak pôsobí nezrozumiteľne. Pri čítaní teórie by som uvítala doplnkový zoznam používaných skratiek zavedených v teórii, nakoľko je ich tam enormné množstvo.
- 3) Pozor na písanie jednotiek. Podľa pokynov pre písanie diplomovej práce sa jednotky majú uvádzať vo forme $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$, $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ a nie mol/l, M, N, mg/ml, m/s.
- 4) V texte sa vyskytujú české výrazy: vedou ke zmenám (str. 16), pôsobením (str. 20)... prípadne poslovenčené anglické výrazy: responzívne, misfolding, bandy, beta-sandwich, environmentu, blotovací...
- 5) Literatúra je písaná veľmi neprehľadne. Bolo by vhodné medzi jednotlivými citáciami spraviť medzeru prípadne odsadenie od okraja, aby bola každá ďalšia citácia ľahšie viditeľná a čitateľ sa mohol rýchlejšie zorientovať. V zozname sú niektoré citácie písané iným štýlom alebo sa vyskytujú dvakrát:

CHAKI, M. O. U. N. I. R. A., VALDERRAMA, R. A. Q. U. E. L., FERNÁNDEZ-OCAÑA, A. N. A. M., CARRERAS, A. L. F. O. N. S. O., GÓMEZ-RODRÍGUEZ, M. A. R. I. A. V., LÓPEZ-JARAMILLO, J. A. V. I. E. R., et al. (2011). High temperature triggers the metabolism of S-nitrosothiols in sunflower mediating a process of nitrosative stress which provokes the inhibition of ferredoxin-NADP reductase by tyrosine nitration [Online]. *Plant, Cell & Environment*, 34(11), 1803-1818. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02376.x>

Zhang, J., Du, X., Wang, Q., Chen, X., Lv, D., Xu, K., et al. (2010). Expression of pathogenesis related genes in response to salicylic acid, methyl jasmonate and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd [Online]. *Bmc Research Notes*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-208>

Mishra, S. K. In the complex family of heat stress transcription factors, HsfA1 has a unique role as master regulator of thermotolerance in tomato [Online]. *Genes & Development*, 16(12), 1555-1567. <https://doi.org/10.1101/gad.228802>

Baniwal, S. K., Chan, K. Y., Scharf, K. -D., & Nover, L. (2006). Role of Heat Stress Transcription Factor HsfA5 as Specific Repressor of HsfA4 [Online]. *Journal Of Biological Chemistry*, 282(6), 3605-3613. <https://doi.org/10.1074/jbc.M609545200>

Cronjé, M. J., & Bornman, L. (1999). Salicylic Acid Influences Hsp70/Hsc70 Expression in *Lycopersicon esculentum*: Dose- and Time-Dependent Induction or Potentiation [Online]. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 265(2), 422-427. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.1692>

a iné.

Otázky:

- 1) Koľko heat shock faktorov existuje u rajčiaka? Je ich 26 alebo 24? V práci uvádzate obidve hodnoty.
- 2) Používali ste pri SDS-PAGE experimentoch proteínový štandard? Ako ste si overili správnosť separácie proteínov, prípadne či váš HSP70 štandard bol v poriadku? Práve na základe umiestnenia jeho pásu (veľkosti) ste posudzoval jednotlivé vzorky. V diskusii (kapitola 5.2 strana 76) polemizujete práve o pásoch, ktoré ste detegoval pod a nad jeho úrovňou na membráne (obrázok 27). Máte k tejto membráne obrázok SDS-PAGE gélu?
- 3) V práci uvádzate, že: „Imunodetekčné stanovenie HSP70 v listoch *Arabidopsis* a rajčiaka sa ukázalo byť problematické z hľadiska spracovania vzorky a vlastností použitej primárnej protilátky. Výsledkami imunodetekcie proteínov boli membrány bez detegovaných bandov, ktoré by zodpovedali molekulovej hmotnosti štandardu HSP70, častokrát nebol detegovaný ani štandard HSP70“. Preto sa pýtam na základe čoho ste zvolili riedenia primárnej (1:2500) a sekundárnej protilátky (1:5000) pre imunodetekciu HSP70 v študovaných rastlinách? Neskúšali ste optimalizovať riedenie protilátok? Taktiež uvádzate, že ste mal problémy z nešpecifickou väzbou primárnej protilátky. Neskúšal ste vymeniť sušené mlieko za hovädzí sérový albumín? Aká je špecifita primárnej protilátky?
- 4) Aký mikroskop ste použili pre histochemickú detekciu reaktívnych foriem dusíka? V práci to nie je špecifikované.

Chyby, které je nutno opravit

- 1) Ak ste pri SDS-PAGE experimentoch používal proteínový štandard doplňte jeho obrázok a popis formou dodatku.

Závěr: práci doporučuji / ~~nedoporučuji~~ k obhajobě.

V Olomouci dne: 28.05.2020

Podpis



Hodnocení:

- A- 56-60
- B- 51-55
- C- 46-50
- D- 41-45
- E- 36 -40
- F- 35 a méně