

**Program rektora MU na podporu tvůrčí činnosti studentů**

**Podpora vynikajících diplomových / disertačních prací  
(kategorie A,B/C,D)**

**Dílčí / závěrečná zpráva o výsledcích projektu<sup>1</sup> (Oddíl A) a posudek garanta (Oddíl B)**

Identifikační kód projektu

2 | 0 | 0 | 7 | 1 | 4 | 3 | 1 | C | 0 | 0 | 0 | 7

Základní údaje	
Kategorie projektu (čl. 2 odst. 1)	C
Navrhovatel (jméno, příjmení, UČO)	RNDr. Lucie Váňová, 55186
Kontakt (adresa, telefon, e-mail)	Kotlářská 2, 611 37 Brno, 532 146 224 vanoval@sci.muni.cz
Fakulta	Přírodovědecká fakulta
Studijní program – obor	Biologie – Anatomie a fyziologie rostlin
Název projektu	Využití <i>in vitro</i> kultur při studiu vlivu perzistentních organických polutantů na rostliny
Akronym	Biomarkery environmentálního stresu v <i>in vitro</i> kulturách
Vedoucí DP / Školitel DP (+UČO)	doc. RNDr. Marie Kummerová, CSc., 1146
VŠ – fakulta – pracoviště	MU, PřF, oddělení Fyziologie a anatomie rostlin
Kontakt (adresa, telefon, e-mail)	Kotlářská 2, 611 37 Brno, 532 146 225 kumerova@sci.muni.cz

**Oddíl A – vyplňuje řešitel**

**Dílčí / výsledné výstupy projektu**

Získané výsledky z experimentální práce jsou uvedeny v publikaci s názvem „**The effect of fluoranthene on ethylene, ethane and carbon dioxide production and the content of cytokinins in pea plants cultivated *in vitro***“ (publikace byla zaslána do časopisu Ecotoxicology and Environmental Safety a je v oponentním řízení) a v publikaci s názvem „**Abscisic acid level and primary processes of photosynthesis in pea plants cultivated *in vitro* in presence of fluoranthene**“ (publikace byla zaslána do časopisu Plant Growth Regulation a je v oponentním řízení).

Na 14. mezinárodní vědecké konferenci **Nové poznatky z genetiky a šlechtění polnohospodářských rostlin** (13.-14.11.2007, Piešťany, Slovensko) byly formou plakátového sdělení „Can organic pollutants influence quantity and quality of yield of cultivated plants?“

<sup>1</sup> Formulář je shodný pro dílčí i závěrečnou zprávu. Nevhodnou variantu vždy přeškrtněte.

prezentovány výsledky týkající se růstu a rychlosti čisté fotosyntézy rostlin hrachu kultivovaných *in vitro* v přítomnosti zvyšující se koncentrace PAH fluoranthenu v prostředí.

Na mezinárodní konferenci **MendelNet'07 Agro** (28.11.2007, Brno) byly prezentovány výsledky formou přednášky „Changes of level of endogenous phytohormones as new marker of environmental loading” na téma ovlivnění produkce fytohormonů (cytokininy, kyselina abscisová a etylén) přítomností fluoranthenu v kultivačním médiu.

Přednáška byla oceněna druhým místem v sekci Biologie rostlin.

Na mezinárodní vědecké konferenci **Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2008** (12.-13.2.2008, Praha) byly formou plakátového sdělení „Plant responses to fluoranthene visualized by imaging of chlorophyll fluorescence“ prezentovány výsledky týkající se vlivu PAH fluoranthenu na primární procesy fotosyntézy rostlin. Při hodnocení vlivu fluoranthenu byla použita metoda zobrazení fluorescence celé rostliny.

Na mezinárodní konferenci **SETAC Europe 18th Annual Meeting** (25.-29.5.2008, Varšava, Polsko) byly formou plakátového sdělení „Endogenous phytohormones contents as a sensitive indicator of polycyclic aromatic hydrocarbon pollution“ prezentovány výsledky posuzující vliv zvyšující se koncentrace fluoranthenu v prostředí na produkci rostlinných hormonů u rostlin kultivovaných *in vitro*. Jedná se o významnou mezinárodní akci v evropském měřítku. Účasti na této konferenci si velice vážím. Z profesního hlediska ji považuji za velice významnou, protože zde byly prezentovány výsledky jiných evropských laboratoří, které se zabývají hodnocením vlivů environmentálních kontaminantů na všechny složky ekosystému.

Oproti původnímu návrhu projektu, jsem se aktivně neúčastnila konferencí Študentská vědecká konferencia 2008 (Bratislava), 6. vědecká konferencia študentova a doktorandov s medzinárodnou účasťou (Nitra) a SECOTOX 2008 (Brno). Důvodem bylo neuskutečnění se konference (6. vědecká konferencia študentova a doktorandov s medzinárodnou účasťou a SECOTOX 2008). Důvodem neúčasti na Študentské vědecké konferencii 2008 byl dřívější termín konání (únor), oproti původně plánovanému (duben). V této době nebyl projekt C0007 schválen v průběžném oponentním řízení, a proto nemohla být uskutečněna registrace a návštěva konference.

Účast na konferenci Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín (Piešťany) a na konferenci SETAC (Varšava) byla oproti původnímu návrhu projektu neplánovaná. Náklady na tyto konference byly hrazeny z projektu náhradou za konference neuskutečněné.

### **Odborná charakteristika dosažených výsledků**

Disertační práce rozšiřuje a přináší zcela nové poznatky o účinku významné polycyklické aromatické sloučeniny fluoranthenu na rostliny. Studium vlivu perzistentních organických polutantů na vegetaci se již několik let zabývá laboratoř Stresové fyziologie rostlin, oddělení Fyziologie a anatomie rostlin ÚEB, PŘF MU. Domníváme se, že *in vitro* kultury rostlin mohou být vhodné pro studium vlivu organických polutantů z důvodu nízké finanční a prostorové náročnosti. Informací o jejich využití při studiu vlivu xenobiotik na biochemické a fyziologické vlastnosti rostlin je však velmi málo. *In vitro* kultury jsou v experimentální práci využívány zejména pro hodnocení vlivu abiotických stresorů, anorganických kontaminantů a některých organických sloučenin (sacharidy, aminokyseliny, vitamíny, aj.), avšak doposud nebyly využity k hodnocení vlivu organických polutantů, typu polycyklických aromatických uhlovodíků (PAHs). Se zvyšujícím se stupněm znečištění životního prostředí nabývá na aktuálnosti studium a vývoj nových metod pro včasnou indikaci stresu.

Polycyklické aromatické uhlovodíky jsou skupinou organických látek vyskytujících se ve všech složkách životního prostředí. Tyto perzistentní organické sloučeniny se dostávají do potravního

řetězce a mohou působit jako látky toxické s potenciálními karcinogenními, mutagenními a teratogenními účinky. PAHs vznikají během přírodních a antropogenních procesů, zejména během nedokonalého spalování organické hmoty.

Významným zdrojem PAHs pro živočichy i člověka jsou kulturní plodiny, tvořící podstatnou složku suchozemských a vodních ekosystémů, a mají schopnost tyto sloučeniny přijímat, transformovat a akumulovat. Příjem, translokace, transformace a akumulace PAHs rostlinami jsou faktory určující fytoxicitu těchto sloučenin. V závislosti na době a intenzitě působení mohou PAHs v interakci s dalšími environmentálními faktory vyvolávat akutní, chronické a latentní poškození rostlin. PAHs mohou ovlivňovat biochemické a fyziologické procesy rostlin, rozhodující kvantitativně i kvalitativně o tvorbě biomasy. Dlouhodobé působení toxikantu může mít vliv na diverzitu rostlinných druhů, strukturu a funkci ekosystému. Základním předpokladem pro hodnocení bioakumulace, transformace a fytoxicity je studium příjmu xenobiotických sloučenin v laboratorních i přírodních podmínkách. Získané informace jsou využívány při sestavování testů fytoxicity a matematických modelů využívaných k predikci vlivu PAHs na vegetaci. Umožňují porozumět vztahu mezi expozicí a potenciálním ekologickým rizikem.

Při řešení disertační práce bylo využito stávajícího přístrojového vybavení oddělení Fyziologie a anatomie rostlin ÚEB, PŘF MU a Biologie rostlin MZLU v Brně.

V rámci doktorského studia byla vypracována metodika kultivace rostlin hrachu (*Pisum sativum* L. cv. Garde) v *in vitro* podmínkách v přítomnosti zvyšující se koncentrace fluoranthenu (0.1, 1 a 5 mg/L) v Murashige-Skoog kultivačním médiu. Kultivační médium bylo obohaceno o růstové regulátory, kyselinu indolyl-3-octovou (0.1 mg/L, IAA) a nebo kombinaci IAA a N<sub>6</sub>-benzylaminopurinu (0.1 mg/L, BA). Ze skupiny PAHs byl vybrán fluoranthen (FLT), který patří mezi nejčastěji se vyskytující sloučeninu a indikuje přítomnost ostatních PAHs v prostředí. Na rozdíl od jiných PAHs není přímým karcinogenem. Zvolené koncentrace FLT simulují nízké (0.1 mg/L) až vyšší zatížení prostředí (1 a 5 mg/L).

Tkáňové kultury jsou uzavřeným systémem a jsou vhodným objektem pro studium produkce plyných indikátorů stresu, jako je etylén, etan a oxid uhličitý. Zvýšení produkce etylénu a etanu je jednou z prvních reakcí rostlin na působení abiotických nebo biotických stresorů. Vzájemný poměr etylénu a etanu může být indikátorem stupně stresu (viz. výsledky obr. 1,2). Etylén je jediným známým plyným fytohormonem, což jej výrazně odlišuje od ostatních fytohormonů. Jeho tvorba je ovlivněna mnoha fyzikálními a chemickými faktory (světlo, teplo, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>). Je redukována různými stresory, některými přirozenými i syntetickými regulátory růstu a podléhá také autoregulačním mechanismům. Etylén je v několika krocích oxidován na oxid uhličitý. Vyšší rostliny produkují etylén ve všech svých částech. Zvláště velký výdej etylénu byl zjištěn u dozrávajících plodů, u velmi mladých i u stárnoucích listů, a také při působení různých stresových faktorů.

Z výsledků námi provedených experimentů je zřejmé, že vyšší hodnoty produkce etylénu ve všech pokusných variantách během prvních 48 hodinách kultivace, což mohlo být způsobeno dekapitací apexů nebo přítomností FLT. Vyšší produkce etylénu byly zaznamenány u rostlin kultivovaných v médiu s fluoranthenem. Pokles produkce etylénu, zaznamenaný během experimentu, souvisí se zvýšenou produkcí oxidu uhličitého (viz. výsledky obr. 3).

Kultivace rostlin *in vitro* umožnila se vyjádřit ke vlivu uvedeného stresoru na hladinu endogenních fytohormonů. Rostlinné hormony spolu navzájem interagují, aby tak mohly kontrolovat mnoho aspektů růstu a diferenciaci rostlin. Existují mezi nimi synergické, antagonistické a aditivní interakce. Typ interakce často závisí na rostlinném druhu a typu pletiva. Stanovení rostlinných fytohormonů bylo v minulosti prováděno zejména pomocí biotestů, tedy využitím růstových a metabolických reakcí citlivých na daný typ hormonu. V současné době se převážně používají vysoce specifické a citlivé metody fyzikální nebo fyzikálně-chemické a metody imunochemické. Právě jimi, byl v rámci disertační práce stanoven obsah endogenních cytokininů (*trans*-zeatin, dihydrozeatin, isopentenyladenin, benzyladenin, *meta*-topolin a jejich ribozidy). V rostlinách hrachu byl stanoven obsah některých ze sledovaných endogenních cytokininů (viz. výsledky tab. 1). Obsah endogenních cytokininů se zvyšoval se zvyšujícím se stupněm zatížení prostředí

fluoranthemem (1 a 5 mg/L). Stejný stresor v nízkých koncentracích (0.1 mg/L) inhiboval jejich syntézu.

Vyšší produkce cytokininů při vyšším zatížení prostředí může souviset s jejich projektivní úlohou při ochraně rostlin před působením stresorů. Cytokiny podporují vývoj chloroplastů, syntézu chlorofylu, prodlužují období fotosyntetické produktivity rostlin a zvyšují také celkovou produkci biomasy. Tyto skutečnosti byly také prokázány během experimentální práce, kdy byl stanoven obsah biomasy a fotosyntetických pigmentů (chlorofyl *a*, *b* a karotenoidy). Obsah fotosyntetických pigmentů se snižoval se zvyšující se koncentrací FLT (viz. výsledky tab. 5). Vyšší obsahy byly zjištěny v rostlinách kultivovaných v přítomnosti cytokininu. Tyto výsledky jsou dokladem již výše zmíněného protektivního účinku cytokininů.

Dalším studovaným fytohormonem byla kyselina abscisová (ABA), která ovlivňuje mnohé růstové procesy. Kromě regulace růstu má ABA význam v řízení mnoha dalších fyziologických procesů při působení stresových faktorů na rostliny (voda, salinita, teplota, imise, aj.). Koncentrace kyseliny abscisové v rostlinách kultivovaných *in vitro* se významně zvyšovala s rostoucím zatížením prostředí fluoranthemem (viz. výsledky tab. 2). Vyšší produkce ABA byly zaznamenány u rostlin rostoucích v médiu pouze s IAA a IAA+FLT, oproti rostlinám rostoucím v prostředí s IAA+BA a IAA+BA+FLT. Nižší produkce ABA, u rostlin hrachu kultivovaných v médiu s cytokininy, může souviset s již zmíněnou ochrannou úlohou cytokininů vůči působení stresoru.

K rozšíření poznatků o vlivu fluoranthenu na fotosyntézu rostlin v *in vitro* podmínkách byla využita zavedená metoda gazometrická, běžně používaná *in vivo* a *in situ*. Principem gazometrických metod je měření rychlosti výměny oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) mezi rostlinou a jejím okolním prostředím. Rychlost čisté fotosyntézy (P<sub>n</sub>) může být měřena na úrovni samotného listu, celé rostliny nebo vegetačního krytu. Vzhledem k velikosti rostlin hrachu kultivovaných *in vitro* byla rychlost čisté fotosyntézy měřena na celé nadzemní části. Vztah mezi rychlostí fotosyntézy a ozářeností listu má tvar limitní křivky charakteristického tvaru, která bývá označována jako světelná křivka fotosyntézy. Na této křivce je možno rozlišit několik významných bodů. Kompenzační ozářenost, při které rychlost hrubé fotosyntézy je dostatečná na kompenzaci současně probíhající respirace. Druhým významným bodem je saturační ozářenost, při které došlo k nasycení fotosyntézy zářením. Se zvyšující se koncentrací fluoranthenu v médiu se rychlost čisté fotosyntézy významně snižovala (viz. výsledky obr. 4). V tomto směru inhibice fotosyntetických procesů je velmi často klíčovým mechanismem působení organických sloučenin na rostliny.

Polycyklické aromatické uhlovodíky přijaté rostlinami ovlivňují řadu biochemických procesů, které se zákonitě odrážejí v růstu a vývoji rostlin. Vhodným parametrem pro posouzení vlivu PAHs, v tomto případě fluoranthenu, na růst rostlinného organismu je stanovení hmotnosti sušiny kalusů a nadzemních částí rostlin hrachu kultivovaných *in vitro*. Její produkce je spolehlivým vnějším ukazatelem vnitřního ovlivnění metabolismu rostlin. Obsah a distribuce sušiny umožňuje posoudit míru ovlivnění jednotlivých rostlinných orgánů (viz. výsledky tab. 3). Změny zaznamenané v poklesu biomasy rostlin vystavených působení fluoranthenu jsou odrazem zjištěných změn v obsahu endogenních cytokininů. Inhibice růstu rostlin vystavených účinku zvyšující se koncentrace fluoranthenu koreluje s jeho množstvím v pletivu. Akumulace fluoranthenu v rostlinném pletivu byla detekována chromatograficky a následně byl vypočten jeho biokoncentrační faktor (BCF) (viz. výsledky tab. 4).

Fotosyntetická aktivita rostlin je často používána jako bioindikátor kontaminace prostředí. Díky lipofilnímu charakteru mohou PAHs a jejich metabolity penetrovat do tylakoidní membrány a ovlivnit primární procesy fotosyntézy. Transport elektronů fotosystémem II (PSII) je jedním z nejcitlivějších indikátorů poškození. Tyto biochemické změny mohou být detekovány na základě změn indukce fluorescence chlorofylu dříve než změny morfologické. Metoda indukované fluorescence chlorofylu je vhodnou nedestruktivní metodou pro měření změn souvisejících s fotosystémem II u rostlin vystavených působení polutantů. Při řešení disertační práce byla pro měření fluorescence chlorofylu rostlin kultivovaných *in vitro*, z důvodu malého vzrůstu rostlin, použita metoda zobrazení fluorescence celého objektu (*fluorescence imaging*). Proto bylo fluorescenční záření snímáno z celé rostliny pomocí CCD kamery. Fluorescenční přístroje

vybavené CCD kamerou a vhodným zdrojem záření umožňují sledovat rozložení intenzity fluorescence chlorofylu a její změny v čase na plošném objektu.

Při měření fluorescence chlorofylu u rostlin hrachu byly hodnoceny vybrané parametry:  $F_0$  - základní fluorescence chlorofylu,  $F_V/F_M$  - základní fluorescenční poměr,  $\Phi_{II}$  - kvantový výtěžek elektronového transportu PS II. Z výsledků prezentovaných v obr. 5 (viz. výsledky) je patrné zvýšení hodnot  $F_0$  a snížení hodnot  $F_V/F_M$  a  $\Phi_{II}$  se zvyšujícím se zatížením prostředí fluoranthenem.

Změny v biochemických a fyziologických procesech rostlin jsou doprovázeny změnami buněčných struktur a rostlinných orgánů. Anatomické studie dokumentující vliv polycyklických aromatických uhlovodíků na rostliny jsou pouze ojedinělé. Proto významným přínosem, nejen pro disertační práci, jsou studie anatomických změn u rostlin vystavených působení stresoru, v tomto případě zvyšující se koncentraci fluoranthenu.

Změny parametrů sledovaných fyziologických procesů (růst, rychlost fotosyntézy, fluorescence chlorofylu, produkce plynů, obsah fytohormonů) jsou citlivými indikátory reagujícími na přítomnost fluoranthenu v prostředí. Vliv perzistentních polutantů na rostliny kultivované *in vitro* nebyl doposud studován. Organické polutanty vyskytující se v prostředí a přijímané rostlinami významně ovlivnily také produkci růstových regulátorů. Závěrem lze konstatovat, že *in vitro* kultury mohou být využity pro hodnocení přítomnosti polycyklických aromatických uhlovodíků v prostředí, a mohou se stát vhodným nástrojem pro studium toxického vlivu ostatních environmentálních kontaminantů.

### **Charakteristika dosažených výsledků z hlediska projektu**

Jedním z cílů projektu a disertační práce bylo vypracování metodiky kultivace rostlin hrachu *in vitro* v přítomnosti zvyšující se koncentrace fluoranthenu v živném médiu Murashige-Skoog.

Během experimentální práce byly získány původní vědecké informace o vlivu zvyšující se koncentrace PAH fluoranthenu a doby expozice (1, 2, 3, 7, 14 a 21 dní) na produkci plyných indikátorů stresu (etylénu, etanu a oxidu uhličitého). Produkce etylénu a etanu byla detekována plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrickou detekcí (GC-MS). Produkce oxidu uhličitého byla detekována plynovou chromatografií (GC). Produkce těchto plynů byla stanovena na oddělení Biologie rostlin MZLU v Brně.

Dalším z cílů projektu a disertační práce bylo stanovení množství endogenních fytohormonů (cytokininy, kyselina abscisová). Jejich množství bylo stanoveno po 21 dnech kultivace. Stanovení cytokininů bylo provedeno po extrakci, purifikaci a HPLC separaci s využitím imunochemické metody ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). V rostlinách byly stanoveny některé báze a ribozidy cytokininů (dihydrozeatin ribozid, benzyladenin, benzyladenin ribozid, *meta*-topolin, *meta*-topolin ribozid, isopentenyladenin). Koncentrace kyseliny abscisové v rostlinách hrachu byla stanovena vysoce citlivou kvantitativní imunochemickou metodou RIA (Radio-Immuno Assay). Stanovení bylo provedeno na oddělení Biologie rostlin MZLU v Brně.

V původním návrhu projektu byla izolace a detekce auxinů. Tato analýza měla být provedena na oddělení Biologie rostlin MZLU v Brně. Avšak vzhledem k náročné metodice (komplexnost přístrojového vybavení) nebyla jejich analýza doposud úspěšná, a proto součástí disertační práce a řešeného projektu nejsou a nemohou být výsledky týkající se obsahu auxinů v rostlinách kultivovaných v přítomnosti fluoranthenu.

Gazometrické stanovení rychlosti čisté fotosyntézy patří k metodám zavedeným a běžně používaným na oddělení Fyziologie a anatomie rostlin PŘF MU. Stanovení bylo provedeno po 21 dnech kultivace rostlin a pro měření byl využit otevřený systém s infračerveným plynovým

analyzátořem (IRGA). Výsledky měřeni nám pomohly rozšířit poznatky o působeni PAH fluoranthenu na *in vitro* rostliny.

Ovlivněni biochemicko-fyziologických procesů se významně odráží v biomase rostlin. Proto byl gravimetricky stanoven i obsah jednotlivých orgánů (kalus a nadzemní část).

Obsahu fluoranthenu v rostlinách byl stanoven plynovou chromatografií s hmotnostním spektrometřem (GC-MS) v Laboratoři analytické chemie životního prostředí, Ústavu systémové biologie a ekologie AV ČR, v Českých Budějovicích.

Jedním z cílů projektu a disertační práce bylo měřeni fluorescence chlorofylu celého objektu u rostlin hrachu pomocí CCD kamery. Měřeni bylo provedeno po 21 dnech kultivace a byly hodnoceny vybrané parametry fluorescence chlorofylu ( $F_0$ ,  $F_V/F_M$ ,  $\Phi_{II}$ ). Fluorescence chlorofylu je zavedená a běžně používaná metoda na oddělení Fyziologie a anatomie rostlin PřF MU.

Pro rozšíření poznatků o vlivu PAH na rostliny byly provedeny anatomické řezu jednotlivými rostlinnými orgány. Tyto řezu byly provedeny na katedře Fyziologie rostlin, PřF UK v Praze (v době odevzdání závěrečné zprávy nebyly anatomické řezu zpracovány, a proto součástí této zprávy není jejich fotografická dokumentace).

### Účast na odborných akcích v porovnání s plánem

Uveďte

1. název akce, místo konání, dobu konání,
2. aktivní účast – přednáška, poster, apod.
3. plánovaná akce ano  ne  („ne“ zdůvodněte)

Uveďte akce, které byly v hodnoceném období plánovány a neuskutečnily se. Zdůvodněte.

**Nové poznatky z genetiky a šlechtění polnohospodářských rostlin**, Piešťany, Slovensko (13.-14.11.2007) – aktivní účast – poster

- neplánovaná akce / konference a její termín nebyl znám v době podávání projektu, náhrada za konference neuskutečněné

**MendelNet'07 Agro**, Brno (28.11.2007) – aktivní účast - přednáška

- plánovaná akce

**Študentská vedecká konferencia 2008**, Bratislava (únor)

- v původním návrhu plánovaná konference, v době podání projektu byl původně plánovaný termín konference duben. V této době nebyl projekt C0007 schválen v průběžném oponentním řízení, a proto nemohla být uskutečněna registrace a návštěva konference.

**Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2008**, Praha (12.-13.2.2008)

- aktivní účast - poster

- plánovaná akce

**6. vedecká konferencia študentova a doktorandov s medzinárodnou účast'ou**, Nitra (duben)

- v původním návrhu plánovaná konference, neuskutečnila se

**SECOTOX 2008**, Brno (duben)

- v původním návrhu plánovaná konference, neuskutečnila se

**SETAC Europe 18th Annual Meeting**, Varšava, Polsko (25.-29.5.2008)

- aktivní účast - poster
- neplánovaná akce / konference a její termín nebyl znám v době podávání projektu, náhrada za konference neuskutečněné
- významná mezinárodní konference, která patří k největším ve střední Evropě

### Čerpání finančních prostředků (uvádět v tisících Kč na jedno desetinné místo)

	položka	přiděleno	čerpání
1	Stipendium pro řešitele	15	15
2	Cestovné	14.7	14.6
3	Studijní literatura, náklady na publikace	12	11.9
4	Materiál	28.3	28.6
5	Služby	18	17.9
6	<b>Celkem</b>	88	88

### Zdůvodnění rozdílů v plánovaném čerpání finančních prostředků

- Cestovné – finance z původně plánovaných, neuskutečněných akcí byly použity na zaplacení nákladů na akce náhradní
  - finance byly použity na úhradu konferenčních poplatků, ubytování, cestovného a stravného (seznam konferencí a důvod jejich uskutečnění/neuskutečnění viz. výše)
  - v původním návrhu projektu byl zařazen pobyt na PřF UK (Praha) – studium metodiky řezů rostlinnými orgány – tento pobyt se neuskutečnil z důvodu organizačních změn na fakultě
- Studijní literatura – literatura byla zakoupena v souladu s návrhem projektu, nová literatura poslouží k doplnění knihovny Fyziologie a anatomie rostlin  
Seznam zakoupené literatury:
  - Anatomy of Flowering Plants (P.J. Rudall)
  - Atlas – naše květiny (M. Deyl, K. Hisek)
  - Biostatistika (J. Lepš)
  - Environmental Biology for Enginners and Scientists (D.A. Vaccari et al.)
  - Environmental degradation and transformation of organic chemicals (A.H. Neilson)
  - Fyziologie rostlin (S. Procházka a kolektiv)
  - Komentovaný atlas anatomie vyšších rostlin (J. Jurčák)
  - Německo-český, česko-německý slovník (Lingea)
  - Velký anglicko-český, česko-anglický slovník (J.Fronek)
- Materiál – dle návrhu projektu byly finance čerpány na nákup drobných kancelářských potřeb, toneru, chemikálií a drobných laboratorních potřeb
  - v návrhu projektu nebyl specifikován nákup míchačky a externího disku (dle aktuálních potřeb byl jejich nákup uskutečněn)
- Služby – finance byly použity dle návrhu projektu k tisku posterů, barevného tisku do disertační práce, kopírování a k dohodám o provedení práce (analýzy, korektura anglického textu)

**Oddíl B<sup>2</sup> - posudek vedoucího / školitele DP pro průběžné / závěrečné oponentní řízení****Odborná úroveň řešení projektu**

1	výborná, dosaženo originálních výsledků významných pro obor	X
2	velmi dobrá, dosaženo nadprůměrných výsledků s významem pro obor	
3	průměrná, dosaženo dílčích výsledků průměrné úrovně v rámci oboru	
4	nedostatečná, nebylo dosaženo dobrých výsledků v rámci oboru	
5	zcela nevyhovující nebo nelze z dílčí / závěrečné zprávy o projektu posoudit	

Výsledky experimentální práce dokládají významný vliv polycyklické aromatické sloučeniny fluorantheny na hladinu rostlinných hormonů, které ovlivňují růst a vývoj rostlin. *In vitro* kultury byly doposud využívány k hodnocení vlivu anorganických polutantů a z důvodu jejich nízké finanční a prostorové náročnosti byly zvoleny i pro hodnocení vlivu organických polutantů na rostliny. Námi zjištěné výsledky dokládají, že je lze využít i pro hodnocení vlivu významné skupiny polutantů, a to polycyklických aromatických uhlovodíků.

**Cíle projektu a harmonogram**

1	dílčí / výsledné cíle projektu dosaženy nad rámec předpokladů a harmonogramu	
2	<del>dílčích</del> / výsledných cílů projektu dosaženo v souladu s předpoklady a harmonogramem	X
3	dílčích / výsledných cílů dosaženo podle předpokladů s časovým skluzem	
4	dílčích / výsledných cílů dosaženo jen částečně	
5	dílčích / výsledných cílů není dosahováno	

Cíle projektu byly beze zbytku splněny a byly v souladu s předpoklady a harmonogramem původně navrhovaného projektu. Navíc, nad rámec projektu, byly sledovány i změny ve významném procesu energetického metabolismu, fotosyntéze.

**Výstupy projektu**

1	množství a úroveň výstupů projektu překračuje předpoklady návrhu	X
2	množství a úroveň výstupů projektu odpovídají předpokladům návrhu	
3	buď množství nebo úroveň výstupů projektu nedosahuje předpokladů návrhu	
4	množství i úroveň výstupů projektu zaostávají za předpoklady návrhu	
5	výstupy projektu jsou zcela nedostatečné v porovnání s předpoklady návrhu	

<sup>2</sup> Vyplňuje odborný garant – vedoucí diplomové práce / školitel disertační práce. Kompletně vyplněný formulář (oddíl A i B) vkládá garant do Elektronického seznamu v Dokumentovém serveru ISMU, a to pro průběžné oponentní řízení vždy nejpozději k 31. prosinci daného akademického roku a pro závěrečné oponentní řízení nejpozději k 31. květnu daného akademického roku.

Doktorandka se aktivně zúčastnila mezinárodních vědeckých konferencí (Nové poznatky z genetiky a šlechtění polnohospodářských rostlin – Piešťany, MendelNet'07 Agro – Brno, Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2008 – Praha, SETAC Europe 18th Annual Meeting – Varšava).

Pozitivně hodnotím účast doktorandky na mezinárodní konferenci SETAC ve Varšavě.

### Čerpání finančních prostředků a jeho zdůvodnění

1	čerpání velmi uvážlivé a přiměřené cílům projektu, zdůvodnění věcné a realistické	X
2	čerpání přiměřené cílům projektu, zdůvodnění vyžaduje upřesnit	
3	spotřeba prostředků vyšší než odpovídá výsledkům, zdůvodnění vyžaduje upřesnit	
4	čerpání neúsporné, v rozporu s dosahovanými výsledky	
5	přiměřenost čerpání nelze posoudit vzhledem k nedostatečnému zdůvodnění položek	

Čerpání finančních prostředků viz. zpráva o výsledcích projektu.

Finance byly použity uvážlivě a dle původního návrhu projektu.

### Hodnocení projektu z hlediska úrovně budoucí diplomové / disertační práce

1	výsledky projektu z hlediska DP vysoce nadstandardní a rozhodující pro její úroveň	X
2	výsledky projektu z hlediska DP nadprůměrné a důležité pro její úroveň	
3	výsledky projektu z hlediska DP průměrné, přispějí k její dobré úrovni	
4	výsledky projektu přispívají k zlepšení úrovně DP pouze okrajově	
5	výsledky projektu nepředstavují z hlediska DP žádný přínos	

Disertační práce přináší zcela nový metodologický přístup ke studiu vlivu organických polutantů na rostliny. Využití *in vitro* kultur při řešení problematiky vlivu xenobiotik na rostlinné organismy je zcela netradiční. Ukazuje se, že vzhledem k jejich nízké finanční a prostorové náročnosti mohou být s úspěchem použity při studiu ostatních environmentálních kontaminantů. Finanční prostředky udělené tomuto projektu umožnily i studium strukturálních změn rostlinných orgánů vystavených vlivu organických polutantů.

### Celkové hodnocení stavu řešení / řešení projektu <sup>3</sup>

1	vynikající výsledky, doporučuji nadále financovat / přijmout jako úspěšně ukončený	X
2	velmi dobré výsledky, doporučuji nadále financovat / přijmout jako úspěšně ukončený	
3	průměrné výsledky, další finanční prostředky redukovat / přijmout s výhradami	
4	podprůměrný projekt, financování zastavit / přijmout s vážnými výhradami	
5	špatný projekt, financování zastavit / hodnotit jako neúspěšně ukončený	

<sup>3</sup> Varianty se týkají průběžného / závěrečného oponentního řízení. Nevhodné varianty přeškrtněte.

V rámci předloženého projektu **Využití *in vitro* kultur při studiu vlivu perzistentních organických polutantů na rostliny** byla optimalizována metodika kultivace hrachu *in vitro* a u rostlin byly detekovány některé biochemicko-fyziologické parametry (biomasa rychlost čisté fotosyntézy, fluorescence chlorofylu, obsah fotosyntetických pigmentů, produkce plynů, obsah fytohormonů, obsah fluoranthenu).

Získané výsledky byly prezentovány formou plakátového sdělení na mezinárodní konferenci Nové poznatky z genetiky a šlechtění polnohospodářských rostlin, která se konala 13.-14.11.2007 v Piešťanech, formou přednášky na mezinárodní konferenci MendelNet'07 Agro, dne 28.11.2007 v Brně, formou plakátového sdělení na mezinárodní konferenci Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin, ve dnech 12.-13.2.2008 v Praze a formou plakátového sdělení na mezinárodní konferenci SETAC Europe 18th Annual Meeting, konané ve dnech 25.-29.5.2008 ve Varšavě.

Získané výsledky jsou součástí publikací „The effect of fluoranthene on ethylene, ethane and carbon dioxide production and the content of cytokinins in pea plants cultivated *in vitro*“ a „Abscisic acid level and primary processes of photosynthesis in pea plants cultivated *in vitro* in presence of fluoranthene“ a v současné době jsou v oponentním řízení.

Uvedené skutečnosti jsou dokladem velmi dobré a aktivní práce doktorandky a jsou i zárukou pro zdárné dokončení projektu.

Datum: 30.5.2008