



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Biotechnologické centrum

Studentská 13, 370 05 České Budějovice

prof. Ing. Vladislav Čurn, PhD.

☎ *420-387772588

fax: *420-387772588

e-mail: vcurn@seznam.cz

Oponentský posudek na disertační práci
Ing. Lenky Drábkové
„Izolace a charakterizace genu pro lakázu u ječmene
(*Hordeum vulgare* L.)“

Předložená doktorská disertační práce se zabývá zajímavou problematikou studia rostlinných polyfenoloxidáz - enzymů, které jsou známé a studované již po velmi dlouhé období, ale u zemědělsky/hospodářsky významných rostlin jsou informace o funkci a struktuře těchto enzymů velmi sporadické. Přitom se uvažuje že lakázy, resp. polyfenoloxidázy hrají významnou úlohu v reakci rostlin na stresové podmínky. Vzhledem k tomu, že problematika abiotického stresu patří k nejvýznamnějším šlechtitelským cílům, je i zaměření práce velmi aktuální. Lze také než ocenit i pojetí zaměření práce, chápání stresových podmínek a reakce rostlin na stres nejen v dnes běžném schématu reakce rostlin na chlad a sucho. Autorka disertace podává široký a ucelený přehled o studované problematice, práce představuje vhodné spojení široké škály metodických přístupů a z textu práce a publikovaných výsledků je patrné, že autorka zvládla všechny náročné techniky.

Po formální stránce se jedná o zdařilou práci s členěním, které splňuje požadavky kladené na disertační práci. Úvodní kapitola (abstrakt) navozuje studovanou problematiku a vymezuje rámec disertační práce. Následují chabě uvedené cíle práce, bez hypotéz. V literárním přehledu autorka podává obsáhlý a detailní popis problematiky, byť přehled o ječmenu, sladování a „Českém pivu“ je velmi zestručnělý, útržkovitý a na první pohled vytržen z kontextu dalších kapitol pojednávajících funkci a struktuře lakáz. Kapitoly pojednávající o struktuře, reakčních mechanismech a zastoupení a významu lakáz u jednotlivých skupin organismů jsou velmi pečlivě a detailně zpracované a poukazují na význam této skupiny enzymů. K této části práce bych měl několik drobných připomínek:

- Během sladování dochází pouze k degradaci zásobních proteinů? Jakou funkci pak mají zmiňované amylytické enzymy?
- Až na výjimky (Reiss 2013, Du et al. 2013) jsou citované práce staršího data; řada pasáží působí dojmem o citování autora, který se danou problematikou zabýval jako první... a pak jakoby vývoj a publikování ustalo, či se autorka zaměřila na práce publikované v letech 1990-2010.
- Je zde několik drobných formálních opominutí – věta končí tečkou a poté následuje závorka s výčtem citovaných literárních pramenů; práce je psána v češtině – namísto „and“ by u citací mohlo být používáno „a“; dosti nepřehledné je použití „seznamu“ citovaných prací na konci odstavce – např. kap. 6.6.4 – kdy je uvedeno 7 rostlinných druhů (+ a jiné) a poté následuje dlouhý seznam citací bez toho, že má čtenář vazbu mezi příslušným rostlinným druhem a citovanou prací, tento nešvar se pak v práci opakuje poměrně často; chybně je na str. 19 uvedena práce Mayer and Harel 1968 – v seznamu literatury je uveden rok 1979 - autorka pravděpodobně mínila práci „A laccase-like enzyme in peaches, *Phytochemistry* 7: 1253“, a možná by bylo vhodné uvést novější práci Mayer 2006 - *Phytochemistry* 67: 2318; do slova vyvíjet na str. 22 se vloudila hrubka.
- Neúplně správná je zmínka o fylogenezi gymnosperm a angiosperm na str. 20 či o katalyzování substrátů na str. 21.
- Jaké výrobky má autorka na mysli – 2. věta na str. 22?

Kapitola Materiál a metody uvádí přehled jak o používaném materiálu, tak o velmi široké škále metod, které disertantka během zpracování disertační práce používala. Opět poznámky k formulacím:

- Druhý odstavec kap. 7.1.2 by mohl být přehlednější, zmiňované odrůdy ječmene stojí ve větě bez větné skladby, nepatří VÚPS a spíše slouží pro výrobu sladu pro výrobu „Českého piva“.
- Kap. 7.1.3 – homogenizace byla pravděpodobně provedena v tekutém dusíku? Popis procesů a funkce merkaptetanolu je lehce zkratkovitý. Po vysrážení DNA zřejmě následovala centrifugace... Délkový standard HindIII – zřejmě se jedná o DNA fága „lambda“ štěpenou RE Hind III.
- Kap. 7.1.16 – názvy kyselin by bylo vhodné uvádět ve stylu kyseliny galové, tedy slovo kyselina na prvním místě; extrakce – co znamená „po hodině extrakce se váha zvýšila na 200 g“ ?, když už extrakční směs měla hmotnost 50+150 g ? HPLC analýza byla prováděna formou služby nebo disertantkou?

Kapitoly *Výsledky* a *Diskuse* podávají kvalitní a obsáhlou dokumentaci dosažených výsledků, která je dále podložena dvěma publikovanými pracemi uvedenými v příloze disertace. Výsledky jsou i dobře komentované a diskuse je obsáhlá a dobře vedená.

- Jak si autorka vysvětluje, že exprese lakázy má vliv na obsah kyseliny vanilové a nebyl zjištěn vliv na jiné fenolické sloučeniny?

- Nelze vysokou úroveň *HvLac1* transkriptu na počátku sladování u odrůd Blaník a Bojos vysvětlit tím, že se jedná o odrůdy s odlišnými parametry (oproti odrůdám Sebastian a Streif)?

Přílohou disertační práce jsou dvě publikace autorky v prestižních časopisech. Zde by bylo vhodné uvést krátký komentář k dosaženým výsledkům a lépe tyto publikace a výsledky prezentovat. Na základě dosažených výsledků práce lze nesporně konstatovat, že cíle disertační práce byly naplněny.

Autorka předložené disertační práce prokázala schopnost samostatné odborné a vědecké práce. Zvládla všechny náročné techniky a dosažené výsledky publikovala v prestižních časopisech. Práci doporučuji k obhajobě a po zodpovězení připomínek a úspěšném obhájení práce doporučuji udělit Ing. Lence Drábkové akademický titul „*Doktor*“.

prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta