

OPONENTSKÝ POSUDEK
doktorské disertační práce

„Vliv řízené exprese *ipt* genu, exogenní aplikace cytokininů a nitrátu na metabolismus cytokininů a senescenci listů“

Předkladatel disertace: Mgr. Blanka Sýkorová (roz. Šolcová)

Přírodovědecká fakulta UK Praha

Oponent: RNDr. Miroslav Griga, CSc.

AGRITEC Plant Research s.r.o. Šumperk

Mgr. Blanka Sýkorová předložila disertační práci zabývající se rolí cytokininů v interakci s nitrátem v senescenci listů u obilovin a luskovin. Senescence jako vnitřně naprogramovaná a regulovaná sekvence biochemických / fyziologických pochodů vedoucích u monokarpických rostlinných druhů (k nimž patří většina ekonomicky významných jednoletých plodin) k tvorbě semen a zániku vegetativních orgánů rostliny, je úzce spojena s cytokininy, které ovlivňují na straně jedné fotosyntetický aparát (životnost chloroplastů, metabolismus uhlíku), tak na straně druhé příjem / metabolismus nitrátů (jako hlavního zdroje anorganického dusíku pro rostlinu). Cytokinininy (v úzké synergické či antagonistické kooperaci s auxiny) ovlivňují / regulují významné vývojové fenomény rostlin – apikální dominanci, systém source-sink mezi vegetativními a generativními orgány, zvýšenou toleranci ke stresovým faktorům – a mohou tak významně přispět ke zlepšené produktivitě kulturních rostlin. Jako pracovník aplikovaného výzkumu a šlechtění rostlin oceňuji, že experimenty v předložené disertaci byly realizovány na rostlinných druzích, reprezentujících významné zemědělské plodiny (pšenice, oves, hrách), a tudíž i získané výsledky by měly mít „kratší cestu“ k potenciálnímu praktickému využití. Celá studovaná oblast (tedy metabolismus cytokininů ve svých širších souvislostech) nepochybně přinese řadu nových teoretických poznatků pro biologii růstu a vývoje rostlin a lze od ní očekávat i významné komercializovatelné výsledky.

Dizertace je prezentována v anglickém jazyce. Po formální stránce je práce členěna na literární přehled včetně použité literatury (41 str.), následují cíle práce a bezprostředně poté závěry (2 str.). Výsledková část je pak doložena kopiemi 6 publikací / rukopisů publikací, z nichž dvě již vyšly tiskem (*Journal of Plant Regulation; Phytochemistry*), další čtyři byly odeslány do tisku (do jakých časopisů ?!). Ve třech pracech odeslaných do tisku je uchazečka první autorkou. Jako pravidelný (a patrně již mírně konzervativní) oponent disertačních prací si postupně zvykám na různou formu těchto prací a velkou variabilitu těchto forem i na jednom a tomtéž školicím pracovišti. V této souvislosti bych určitě uvítal požadavek na sjednocení formy disertačních prací ve smyslu: (1) má-li uchazeč dostatek publikovaných výsledků (4-5 prací), ať zvolí formu s kopiemi publikací (se stručným literárním úvodem, ale i se stručnou shrnující diskusí!), (2) splnil-li uchazeč podmínku 1-2 požadovaných publikací, ať napíše standardní práci s literárním přehledem, cíli práce, materiálem a metodami, výsledky, diskusí a závěry. Tím nechci říct, že co je nové či odlišné, je špatné – to rozhodně nikoliv!!! V každém případě je stručné uvedení výsledků práce (1,5 str.) bezprostředně za jejími cíli zajímavým formálním řešením. Taktéž bych uvítal alespoň stručné shrnutí hlavních metodických přístupů jako samostatnou kapitolku a závěrečnou krátkou diskusí (i když toto vše je pochopitelně podrobně uvedeno v přiložených publikacích / rukopisech publikací). Uvedené výhrady k formě lze pak tedy charakterizovat jako irelevantní, ryze subjektivní (=co se líbí jednomu, nemusí se líbit druhému) a v zásadě nemající vliv na obsah předložené práce.

Práce je na vysoké grafické / estetické úrovni s minimem formálních či jazykových chyb (tyto jsem vyznačil přímo v textu práce). Domnívám se, že číslování závěrů (str. 42, 43) by mohlo logicky odpovídat číslování cílů – bylo by to srozumitelnější pro čtenáře. To platí pouze pro čísla I a V, čísla II, III a IV jsou vzájemně prohozená. V References (kromě drobných chybiček) chybí zdroj (časopis) u autorkou velmi frekventovaně citovaných autorů Noodén a Guiamét (1996).

Literární přehled je zpracován velmi fundovaně a čtivě a opírá se jak o starší klasické práce, tak zejména o recentní poznatky – je členěn do šesti kapitol: první dvě se věnují fenoménu senescence listů a roli fytohormonů v tomto procesu; třetí a čtvrtá kapitola popisuje roli cytokininů v přenosu signálů mezi kořenem a stonkem a metabolismus cytokininů; pátá kapitola uvádí možnosti regulace hladin cytokininů ve vztahu k výnosovým parametrům rostlin; konečně poslední šestá kapitola shrnuje metody detekce obsahu cytokininů včetně degradace cytokininů.

Disertace měla vytyčeno pět dílčích cílů:

1. Zhodnocení vlivu genu *ipt* exprimovaného promotorem spřaženým se senescencí (*SAG12::ipt*) na oddálení senescence, obsah cytokininů, příjem a distribuci nitrátu a tvorbu zrna u pšenice.
2. Porovnání účinku izoprenoidních a aromatických cytokininů a způsobů jejich aplikace na senescenci, hladinu endogenních cytokininů, jejich příjem a translokaci v oddělených listech pšenice a ovsa.
3. Detekce aktivity CKX v xylémové šťávě ovsa / pšenice a charakteristika jejich biochemických vlastností a reakce na změny signálu z prostředí, který ovlivňuje hladinu cytokininů v kořenech.
4. Stanovení aktivit CKX a ZRED u pšenice / hrachu, popis jejich biochemických vlastností a jejich úlohy v udržování homeostáze cytokininů.
5. Zdokonalení metod analýzy cytokininů a aktivity enzymů spřažených s metabolismem cytokininů.

Uvedené cíle uchazečka splnila a dokladuje je příloženými publikacemi a rukopisy odeslanými do tisku. Výsledky byly dosaženy týmovou prací pod odborným vedením nestora problematiky cytokininů u nás – ing. M. Kamínka, CSc. Pracovní podíl uchazečky na dosažených výsledcích je nezpochybnitelný. Dosažené výsledky rozšiřují teoretické poznatky o roli cytokininů a nitrátu v senescenci a o metabolismu cytokininů a mohou mít praktický dopad při regulaci výnosu zemědělských plodin.

K uchazečce mám tyto dotazy:

- Existují již či jsou ve vývoji transgenní materiály se změněným metabolismem cytokininů u některé z hospodářsky významných plodin? Pokud ano, co transgen ovlivňuje?
- Využití cytokininů v kulturách *in vitro* je zřejmé a nezastupitelné a má velké ekonomické dopady v „biotechnologickém průmyslu“, konkrétně při mikropropagaci okrasných rostlin. Jaká je však situace v polních podmínkách? Z výsledků je zřejmé, že manipulací s nitrátem a exogenním cytokininem lze regulovat senescenci obilovin a tedy i ovlivňovat výnos. Jsou známy výsledky s ošetřením v polních podmínkách a jaká by byla ekonomická stránka takovéto aplikace?
- V případě luskovin (kupř. hrách) vstupuje do hry kromě příjmu anorganického dusíku (nitrát) kořeny i vzdušný dusík symbioticky vázaný hlízkovými bakteriemi na

kořenech. Může být v této souvislosti rozdíl v interakci cytokininů x nitrát mezi luskovinami a kupř. obilovinami?

ZÁVĚR

Mgr. Blanka Sýkorová předložila jako doktorskou disertaci soubor originálních výsledků týkajících se role cytokininů a nitrátu v senescenci listů obilovin a metabolismu cytokininů u obilovin a luskovin. Většina dosažených výsledků významně přispívá k rozšíření poznání v dané oblasti fyziologie rostlin. Výsledky autorka publikovala ve dvou impaktovaných časopisech, další čtyři rukopisy vycházející z problematiky disertace jsou v redakčním řízení. Uchazečka je rovněž spoluautorkou dvou knižních kapitol zabývajících se problematikou cytokininů a dále spoluautorkou dalších tří časopiseckých prací s tematikou disertace přímo nesouvisejících. Jak dosaženými výsledky, tak kvalitní publikační činností uchazečka splnila (a domnívám se, že i překročila) požadavky kladené na završení doktorandského studia. Uchazečka přesvědčivě prokázala způsobilost k tvůrčí vědecké práci, analýze experimentálních dat a jejich korektní interpretaci. Předložená práce splňuje všechny náležitosti a požadavky na doktorské práce kladené, a proto doporučuji Komisi z oboru anatomie a fyziologie rostlin, aby práce byla přijata k obhajobě a po jejím splnění byla Mgr. Blance Sýkorové udělena vědecká hodnost Ph.D.

V Šumperku 10. června 2007

M. Griga