

Oponentský posudek disertační práce

mgr. L. Fischerové „Somatická embryogeneze smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.)

Mgr. L. Fischerová si ve své disertační práci vytkla následující cíle: porovnat vliv různých koncentrací nepenetrujícího osmotika PEG 4000 na některá biochemická a anatomická specifika v průběhu vývoje somatických embryí smrku ztepilého a na efektivitu různých kultivačních postupů, a charakterizovat expresi genu pro transkripční faktor *PaVI* v embryogenních liniích odlišujících se rozdílnou schopností vytvářet somatická embrya. Na základě dosažených výsledků měla definovat metodicko-technologický protokol *in vitro* pěstování embryogenních kultur od indukce somatické embryogeneze až po maturaci somatických embryí a jejich dlouhodobé uchovávání v tekutém dusíku (kryopresevace).

Disertační práce je předkládána jako soubor 5 studií, z nichž 2 představují publikace v časopisech, 2 kapitoly v monografiích a 1 je poslána do tisku (bez udání specifikace). K tomu je přidán výčet 29 citací prací autorky, které prezentovala na českých i mezinárodních konferencích. Pět studií zahrnutých do disertační práce tématicky odpovídá vytčeným cílům a je organicky propojeno literárním přehledem současného stavu znalostí o somatické embryogenezi jehličnanů a základními, ale výstižnými informacemi o zakládání a technologických postupech kultivace jednotlivých fází diferenciac embryogenních kultur (indukce, maturace apod.). Přehledně je zpracována část o vývoji somatických embryí, úloze některých růstových faktorů (ABA) a rozdílnosti ve schopnosti jednotlivých embryogenních linií vytvářet zralá embrya. V diskusní části pak porovnává jednotlivé výstupy publikovaných prací s výsledky jiných autorů a věnuje zvýšenou pozornost rozdílům v expresi genu *PaVPI* v závislosti na senzibilitě jednotlivých embryogenních linií v odezvě na ABA.

Oponentku zaujaly dva výstupy této disertace, o kterých se lze domnívat, že mají základní význam při dalším analytickém studiu somatické embryogeneze jehličnanů a zároveň mohou být využity v mikropropagačních technologiích.

Za prvé je to vliv koncentrací nepenetrujícího osmotika PEG 4000 na urychlení maturační fáze somatických embryí regulujících zároveň obsah endogenních nestrukturních sacharidů (přiložené publikace č. 1, 2 a 4).

Za druhé je to studie o expresi genu pro transkripční faktor *PaVPI* účastnícího se přenosu signálu ABA v průběhu embryogeneze (přiložená publikace č. 5), kde autorka prokázala jeho rozdílnou expresi u jednotlivých embryogenních linií a závislost této exprese na přítomnosti ABA. U linie s vysokou embryogenní kapacitou vedla absence ABA k poklesu

exprese faktoru, což bylo provázeno zvýšením embryogenních poškození. Autorka uzavírá, že exprese *PaVPI* je závislá na přítomnosti exogenní i endogenní ABA a lze ji pokládat za diferenciační marker vyvíjejícího se somatického embrya. V neembryogenních kulturách však nebyla exprese *PaVPI* prokázána dokonce ani po zvýšení koncentrace exogenní ABA, což naopak vedlo k buněčnému stresu (ukládání fenolických derivátů) a odumření kultury. Zde se autorka přímo dotýká nového směru výzkumu, který by měl být zaměřen na detailní objasnění úlohy transkripčních faktorů, které regulují přenos signálů mezi diferencujícími se meristémy v průběhu somatické embryogeneze. Na tomto místě by oponentka ráda položila autorce otázku, zda se domnívá, že lze takovýto výzkum zaměřit na další podobné regulační faktory, např. *cdc2Pa* spojené s buněčným cyklem, které by mohly být využity zároveň jako diferenciační markery.

Ovšem nejen výše zmíněné výstupy jsou významné; také výsledky, které autorka získala při studiu kryoprezervačních postupů, jsou velmi cenné a budou jistě využity na příslušných pracovištích pro snížení pracnosti a ekonomických nákladů na biotechnologické postupy využívající somatickou embryogenezi.

Oponentka může závěrem konstatovat, že práce přinesla řadu hodnotných výsledků: na jedné straně je možné některé z nich považovat za primární, protože naznačují směry příštího základního výzkumu, na straně druhé budou další výsledky jistě aplikovány ve šlechtění lesních dřevin. Autorka nepodcenila ani formální provedení práce. Textový doprovod k souboru uvedených publikací je stylisticky vyvážený, jasný a logický, a rovněž počet citací, na něž se autorka odkazuje, je více než dostačující. Předkládaná disertační práce tak splňuje všechny požadavky a oponentka ji doporučuje ke kladnému přijetí a tím doporučuje i udělení odpovídající vědecké hodnosti Ph.D.

RNDr. Jana Malá, CSc.