

Oponentský posudok na dizertačnú prácu Mgr. Lucie Fischerovej
„Somatická embryogeneza smrku ztepilého (*Picea abies*(L.) Karst.).“

Dizertačná práca je zameraná na štúdium procesu somatickej embryogenézy *Picea abies*, zahrňujúc metabolické, molekulárno-biologické a štruktúrne aspekty. Výsledky práce tvorí súbor 4 publikovaných prác a jeden rukopis zadaný do tlače. Okrem týchto publikácií práca obsahuje úvod, ciele, literárny prehľad, diskusiu, závery, zoznam literatúry, zoznam priložených publikácií a prezentácie na konferenciách. V úvode autorka zdôrazňuje význam štúdia procesu somatickej embryogenézy z teoretického hľadiska a z hľadiska praktickej aplikácie. Praktická aplikácia somatickej embryogenézy vyžaduje dôkladné teoretické vedomosti o celom procese, z čoho vyplýva že predložená práca je nielen významná teoretická štúdia, ale získané vedomosti sú využiteľné aj v praxi.

Literárny prehľad sa sústreďuje na tému práce. Autorka spracovala problematiku somatickej embryogenézy od indukcie, po proliferáciu, maturáciu, desikáciu a klíčenie. Vybrané kapitoly literárneho prehľadu sa sústreďujú na vývin somatických embryí a porovnanie zygotickej a somatickej embryogenézy. Táto kapitola je spracovaná podrobne a obsahuje relevantné najnovšie údaje ale aj práce publikované v skoršom období. Autorka spracovala literárne údaje precízne a v tejto forme podáva ucelený obraz o problematike.

Popis materiálu a metodika sa nachádzajú v obsiahnutých publikáciách a sú podrobne popísané.

Prvá práca zaradená ako výsledok sa zaoberá s vývinom somatických embryí, zameriava sa najmä na účinok PEG-4000 na proces maturácie, pričom nejde len o jednoduchú kvantifikáciu somatických embryí, ale o ich presnú anatomickú charakterizáciu v jednotlivých vývinových fázach. Kvantitatívna anatómia a tiež histochemia výstižne charakterizujú dozrievajúce sa somatické embryá. Výsledky dokazujú, že PEG-4000 v optimálnej koncentrácii (3.75%) má priaznivý účinok na proces maturácie študovaného genotypu embryogénnej kultúry.

Ďalšia práca sleduje dynamiku obsahu uhl'ohydrátov v somatickej embryogenéze. Počas vývinu somatických embryí nastávajú výrazné zmeny v obsahu uhl'ohydrátov v samotných somatických embryách, kým v proliferujúcej kultúre neprebiehajú zásadné zmeny. Z toho vyplýva, že tieto zmeny sú vyvolané samotnými vyvíjajúcimi sa somatickými embryami. Vzhľadom na to, že somatické embryá sa vyvíjajú bez prítomnosti zásobného orgánu (megagametofyt), je potrebné určitá endogénna hladina rezervných látok.

V experimentoch autorka originálne riešila kultiváciu embryogénnych pletív v tekutom médiu – použila nosiče s polypropylénovou membránou, nesúce pletivo na povrchu tekutého média. Táto kultivácia umožnila úspešný vývin somatických embryí, synchronizáciu vývinu a skrátenie doby maturácie. Tento výsledok považujem za významný, vzhľadom na to, že maturácia somatických embryí v tekutých médiách je málo úspešná takmer pri všetkých testovaných druhoch ihličnatých drevín. Vysoko hodnotím úsilie autorky o snahu identifikovať marker „správneho“ vývinu somatických embryí. Identifikácia takého markeru by mohla prispieť k objasneniu rozdielnych reakcií jednotlivých genotypov embryogénnych kultúr ihličnanov na kyselinu abscisovú počas maturácie. Autorka na základe štúdií na úrovni molekulárnej biológie za takýto marker považuje gén PaVP1, ktorého expresia sa výrazne zvyšuje v embryogénnej kultúre s vysokou regeneračnou kapacitou.

Napriek tomu, že autorka v priložených publikáciách diskutovala výsledky experimentov, do práce zaradila samostatnú kapitolu „Diskuze“, čo osobne hodnotím veľmi kladne. V tejto kapitole autorka porovnáva výsledky vlastných experimentov s výsledkami z dostupných literárnych údajov, a diskutuje ich v širších súvislostiach vednej disciplíny. Autorka v diskusii preukázala schopnosť správnej interpretácie faktov a na základe vlastných výsledkov a literárnych údajov hľadať vysvetlenie na študovaný proces.

Práca obsahuje závery (12 bodov), ktoré sú väčšinou zhrnutím vlastných experimentov. Závery svedčia o tom, že počas experimentálnej práce autorka presne sledovala vytýčené ciele, ktoré splnila v stanovenom rozsahu.

Predložená práca je spracovaná na vysokej odbornej úrovni, a obsahuje originálne výsledky, ktoré boli už publikované vo významných medzinárodných časopisoch, alebo sú zadané do tlače. Práca je cenným prínosom do vednej oblasti *in vitro* kultúr, špecificky do oblasti somatickej embryogenézy ihličnatých drevín, a prispieva k objasneniu najmä maturačného procesu, ale celkove aj vývinu a diferenciácie somatických embryí konifér. Okrem publikácií v časopisoch, výsledky práce boli prezentované na konferenciách v domácom prostredí a v zahraničí (celkove 29 konferenčných príspevkov).

K práci mám nasledovné pripomienky a námety do diskusie:

Literárny prehľad zahŕňa všetky aspekty somatickej embryogenézy ihličnatých drevín. Napriek tomu, pri popise vzniku somatických embryí (str. 19) mi chýba interpretácia vzniku somatických embryí tzv. cestou diploidnej partenogenézy (Havel a Durzan: Apoptosis during early somatic embryogenesis in *Picea* spp. In: Somatic Embryogenesis in Wood Plants, Vol 4, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1999).

Považuje autorka za správne používať výraz proembryo pre somatické embryá v proliferujúcej kultúre (str.21), keď pri popise vývinu zygotických embryí uvádza, že proembryogénna fáza je štádium pred predlžovaním suspenzoru (str. 18).

Okrem uvedeného transkripčného faktora PaVP1 génu aké iné markery somatickej embryogenézy konifér sú známe?

Toxicita DMSO (str. 26) – pri vhodnej koncentrácii táto zlúčenina nemá negatívne účinky. Mutagénny účinok DMSO pri uvedenej práci (Aronen et al. 1999) sa prejavil pri kontrole (bez kryoprezervácie).

Pripomienky neznižujú úroveň práce, sú námetom do diskusie.

Záver: predložená práca Mgr. Lucie Fischerovej, a tiež jej doterajšia publikačná aktivita sú na vysokej odbornej úrovni, a svedčia o schopnosti autorky samostatne vedecky pracovať a interpretovať získané výsledky. Dizertačnú prácu odporúčam k obhajobe a súhlasím, aby po úspešnej obhajobe bol autorke udelený titul „PhD“.

Nitra 21. 5. 2007

RNDr. Terézia Salaj, CSc.

