

## Oponentský posudek

Doktorské disertační práce **RNDr. Blanky Sýkorové:**

„**The effect of autoregulated *ipt* gene expression, exogenous cytokinins and nitrate on cytokinin metabolism and leaf senescence**“

### Oponent:

**Prof. Ing. Stanislav Procházka, DrSc.**

Ústav biologie rostlin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně

Senescence listů indukovatelná jak vnitřními, tak i vnějšími faktory patří neoddelitelně k vývoji rostlin. Jak napovídá název práce byla senescence studována pomocí regulací hladin cytokininů řízenou expresí biosyntézy cytokininů, tak exogenní aplikací cytokininů za současného studia komplikovaného metabolismu těchto látek. V rámci práce byly také zdokonalovány analytické metody studia cytokininů a aktivity enzymů účastnících se jejich metabolismu. Doktorská disertační práce RNDr. Blanky Sýkorové je z tohoto hlediska velmi aktuální.

Předložená práce je sestavena z poměrně detailního přehledu současného stavu poznání v oblasti senescence a její regulace, metabolismu cytokininů a roli cytokininů v regulaci produktivity rostlin. Připojeny jsou pak cíle práce a shrnutí, které je rozděleno do pěti částí, odpovídajících jednotlivým publikacím, které tvoří vlastní práci. Vlastní práce tedy sestává ze dvou publikovaných a čtyř do tisku odeslaných originálních sdělení, u kterých v polovině případů je RNDr. Sýkorová první autorkou. Z jednotlivých kapitol, ani z celkového přehledu není zřejmé, jaký byl podíl autorky na jednotlivých publikacích. Obvyklé kapitoly Metody, Výsledky a Diskuse jsou tedy nahrazeny jednotlivými publikacemi. Vzhledem k širokému rozsahu studované problematiky postrádám jednotící shrnutí celé disertační práce.

Otázka 1: Můžete blíže charakterizovat svůj podíl na jednotlivých publikacích?

V první práci byly připraveny transgenní rostliny pšenice exprimující gen *ipt* pod kontrolou senescenčně indukovaného promotoru SAG12. Obsah chlorofylu a jednotlivých cytokininů byl sledován 2 a 10 dní po anthesi. Zatímco dva dny po anthesi nebyl shledán (kromě cis-zeatinu) statisticky průkazný rozdíl od kontrolních netransgenních rostlin, deset dní po anthesi vykazovaly rostliny několikanásobně vyšší obsah cytokininů a zvýšený obsah chlorofylu. Tento poznatek vyplývá z textu, nikoliv z připojeného obrázku 4, na kterém jsou pravděpodobně „nepublikovaná“ data z měření obsahu CK po dvou dnech po anthesi.

Otázka 2: Můžete dokumentovat změny hladin cytokininů, tak jak je uvedeno v textu?

Otázka 3: V metodice je uvedeno, že transkripty *ipt* byly detekovány 10 a 13 DAA. 2 DAA tedy ještě nebyly transkripty detekovatelné?

Otázka 4: V diskusi je uvedeno, že zpoždění nástupu senescence u transgenních rostlin vedlo ke zpomalení recirkulace živin z listů do klasu. Jak vysvětlíte tento jev, pokud velmi brzy po anthesi ještě nedošlo k expresi vneseného transgenu?

V druhé práci je na dvou modelových rostlinách demonstrován vliv cytokininů na senescenci měřením retence chlorofylu v listech po aplikaci různých cytokininů. Různými způsoby aplikace se podařilo prokázat vliv jejich odlišné translokace, resp. metabolizace na způsobený efekt.

Otázka 5: Jak si vysvětlujete zvýšenou akumulaci t-Z po aplikaci 3OHBAR, když CKX je indukována i aplikací aromatického CK (obr. 4 je nedostatečně popsán)?

Třetí práce navazuje na předešlou studiem hladin CK a CKX v xylémovém exudátu v závislosti na příjmu nitrátů v rostlinách ovsa. Zajímavým poznatkem je především zjištěný transport CKX xylémem z kořenů do nadzemních částí společně s aktivními CK jež jsou substrátem pro tento enzym pravděpodobně vzhledem k pH prostředí. Studiu vlivu pH na aktivitu CKX a dalšího enzymu účastnícího se metabolismu CK je pak věnována čtvrtá práce. Poslední dvě práce jsou věnovány inovacím analytických metod, jednak vlastních cytokininů a dále stanovení aktivity CKX.

Otázka 6: Jaký je Váš názor na uplatnění regulované exprese některých genů biosyntézy CK pro zlepšení růstových resp. výnosových charakteristik zemědělsky významných rostlin?

Předložená disertační práce obsahuje rozsáhlý soubor výsledků připravený k publikaci, resp. publikovaný ve vědeckých časopisech. I nepublikované části disertační práce byly pečlivě zpracovány v anglickém jazyce, a celkově práce vykazuje známky kvalitního vedení a čerpá z bohatého vědeckého zázemí školícího pracoviště.

Závěr:

Předložená práce RNDr. Blanky Sýkorové odpovídá všem nárokům kladeným na doktorské disertační práce. Práce obsahuje výsledky mající značný, teoretický i praktický význam v oblasti regulace senescence a metabolismu cytokininů. Sepsáním práce autorka prokázala velkou míru teoretických znalostí i praktických dovedností. Práci proto doporučuji přijmout k obhajobě.

V Brně, dne 11. 6. 2007

Prof. Ing. Stanislav Procházka, DrSc.