

Oponentský posudek na disertační práci

Název práce: **Interaction of Plant Protein Complex Exocyst with Proteins Involved in Plant Immunity**

Autorka: Mgr. Jitka Ortmannová

Pracoviště: Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Oponent: doc.Ing. Lenka Burketová, CSc.
Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i.

Předmětem předložené práce je účast exocystu v rezistenci rostlin proti patogenům a možná úloha exocystu v regulaci genů rezistence prostřednictvím autofagie. Tato témata považuji za velmi aktuální a atraktivní vzhledem k tomu, že prohlubují současné znalosti o základních mechanismech rezistence rostlin k chorobám na buněčné úrovni.

Práce byla řešena pod vedením doc. Viktora Žárského a konzultována s Dr. Tamarou Pečenkovou a Dr. Martinem Potockým, tj. ve spolupráci s Ústavem Experimentální botaniky AV ČR, v.v.i. Obě pracoviště se dlouhodobě zabývají výzkumem proteinového komplexu exocyst a dosahují skvělých výsledků, které v posledních letech využívají i při studiu role exocystu v biotických interakcích. Mgr. Ortmannová měla tedy dobré vědecké zázemí, což se také projevilo na kvalitě výstupů.

Disertační práce je koncipována jako soubor publikací doplněný dalším textem. Prezentovány jsou čtyři články, ale je spoluautorkou dvou dalších, které nejsou inkorporovány. Čtyři z těchto článků vyšly v průběhu let 2015 – 2018 v časopisech klasifikovaných podle Web of Knowledge v kategorii Plant Sciences v prvním kvartilu (většina v druhém decilu). Jedná se tedy o velmi respektované časopisy v oboru. Disertační práce obsahuje dva z již publikovaných článků a dva rukopisy (pravděpodobně již zasláné do redakcí časopisů). U každé publikace je specifikován podíl autorky, který je nejvýznamnější u prvoautorské práce ve formě rukopisu zaměřené na význam subjednotky EXO70B2 při penetrační rezistenci *Arabidopsis thaliana* a její interakci s proteinovým komplexem SNARE. U ostatních publikací autorka uvádí podíl při experimentech, analýze dat a přípravě rukopisu.

Průvodní text je rozčleněn do 6 kapitol (Introduction, Aims of the Thesis, Results, Discussion, Conclusions, References) a doplněn souhrnem a závěry v češtině a angličtině. K publikaci č. 3 jsou přiloženy další výsledky, které jsou pokračováním práce a budou využity v dalším výzkumu. Tento způsob prezentace sice nevytváří velký prostor autorce demonstrovat samostatně tvůrčí schopnosti, ale i z tohoto omezeného textu je zřejmé, že jí nechybí. Ocenila bych velmi pěkně a přehledně napsaný souhrn i závěr, ze kterého vyplývá naplnění cílů práce. Úvod (Introduction) (20 stran) je pojat logicky a

přehledně. Vysvětluje základy imunitního systému rostlin, mechanismy penetrační rezistence a dále se zaměřuje na membránový transport. V případě role exocystu v regulaci R proteinů prostřednictvím autofagie se autorka odvolává na první prezentovanou publikaci, kterou je přehledný článek na toto téma (Pečenková et al., 2016). Tento první článek má sloužit jako určité rozšíření úvodu. Této úvodní části bych snad vytkla jen to, že neobsahuje podkapitulu o regulaci růstu kořenového vlášení, která je předmětem druhé prezentované publikace. Cíle práce jsou formulovány formou pěti otázek, jejich naplnění vyplývá jak z diskuse, tak závěru. Diskuse (7 stran) je napsaná také přehledně a doplňuje diskusní část některých prezentovaných publikací.

Sjednocujícím prvkem prezentovaných publikací je sekreční systém, kterého se účastní exocyst v obraně rostlin proti patogenům. Studována byla jednak odezva rostlin na bakterie, ale zejména ne biotrofní houby *Blumeria graminis* pv. *hordei* a *Erysiphe pisi*, které penetrují rostliny přes epidermis a rezistence rostlin proti nim je založena také na tvorbě papily. První prezentovaný článek je přiřčen k úvodu a není dále diskutován. Jedná se o kvalitní přehledný článek (Pečenková et al., 2016), který přináší nový pohled na regulaci proteinů rezistence (R) a předpokládá jejich konstitutivně negativní regulaci prostřednictvím autofagie a podíl exocystu na této regulaci. Druhý článek (Pečenková et al., 2017) demonstruje, že fytopatogenní bakterie (*Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* a *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000) mohou mít stejný efekt na tvorbu kořenového vlášení jaký je popisován v případě bakterií podporujících růst (PRPB). Toto zjištění představuje novou informaci a ukazuje, že je k této reakci rostliny potřebná funkční signální dráha etylénu a sekreční dráha s účastí exocystu. Pro disertační práci je nejvýznamnější třetí článek v podobě rukopisu, jehož je Mgr. Ortmanová první autorkou. V této práci je prokázán specifický význam subjednotky EXO70B2, která je lokalizována přímo v papile. Autoři také demonstrují přímou interakci EXO70B se SYP121, což potvrzuje její roli při imunitě spouštěné molekulovými vzory patogenů (PTI). Na základě srovnání rychlosti tvorby papily u mutantů *exo70B2* a *sec8-m4*, kteří mají opožděnou tvorbu papily, se *syp121*, autorka spekuluje o významu kalózy v papile při penetrační rezistenci, která se tak nejeví její zásadní složkou. Tato práce jednoznačně ukazuje úlohu exocystu (zejména EXO70B2) v interakci se SYP121 při tvorbě papily a haustoriálního obalu, které jsou nezbytné pro rezistenci k biotrofním houbám. Čtvrtý článek (Larson et al.) je prezentovaný opět ve formě rukopisu a ukazuje přímou interakci mezi proteinovým komplexem SNARE a komplexem exocyst na plazmatické membráně. Mohu k této části konstatovat pouze to, že vysoce hodnotím všechny prezentované publikace.

Formální úroveň práce je dobrá, má velmi pěknou grafickou úpravu. Text je psaný srozumitelnou angličtinou. Připadá mi jen trochu zbytečně uvádět abstrakt v textové části „Results“, protože je i součástí publikace, která následuje.

K práci mám následující připomínky a dotazy.

Připomínky:

- V diskusi k článku 2 postrádám úvahu o možné stimulaci růstu kořenů fytohormony nebo těkavými látkami produkovanými samotnými bakteriemi.

- Cíle práce jsou v obsahu prezentovány jako „Aims of the thesis“, ale v odpovídající části textu na straně 23 je „Questions and aims of the thesis“.
- Pokud jde o experimenty s použitím patogenů, doporučuji používat výraz „inokulace“ patogenem a ne „ošetření“.
- Na str. 154 kap. 4.1 – je uvedeno pouze „Pseudomonas strain“ – chybí jméno druhové nebo alespoň *Pseudomonas* sp. (Rod *Pseudomonas* je z velké části fytopatogenní.)
- V práci jsou drobné překlepy, např. str. 76, druhý odstavec support/ má být supports.

Otázky:

- Proč jste v experimentech už dál nepoužívali *E. pisci*?
- Je akumulace kalózy za účasti exocystu specifickou reakcí na penetrující patogeny nebo může být i odezvou na mechanické podráždění buňky? Prováděli jste někdy kontrolní „ošetření“ např. penetrací mikromanipulátorem?
- Pokud se jedná o specifickou reakci na penetrační hrot patogena, máte představu o možných MAMPs penetračního hrotu?
- Myslíte si, že oomycety mohou vyvolávat aktivaci sekrečního systému stejným způsobem jako houby?
- Spekuluje o významu dalších látek v papile při prehaustoriální rezistenci. Můžete uvést nejpravděpodobnější kandidáty?
- V listech exo70B2 jste detekovali zvýšenou hladinu kyseliny abscisové. Tento fytohormon je považovaný za pozitivní regulátor depozice kalózy. Může ABA ovlivňovat sekreční systém zprostředkovaný také subjednotkou EXO70B2?

Uvedené nedostatky nijak významně nesnižují kvalitu předložené práce.

Mgr. Jitka Ortmannová prokázala tvůrčí a vědecké schopnosti a podle mého názoru splnila všechny požadavky kladené na disertační práci na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy. Předloženou práci proto doporučuji k obhajobě.

V Praze 2. června 2018