

Oponentní posudek disertační práce

Studentka: Mgr. Kateřina Dadáková

Název: Molekulární markery obranné reakce u rostlin

Práce je zaměřena na studium molekulárních mechanismů podílejících se na odezvě rostlin na biotický stres u dvou rostlinných druhů, tabáku a révy vinné. Studium signálních drah vedoucích ke spuštění obranných reakcí rostlin proti patogenům je bezesporu aktuální téma. Využití vlastního obranného potenciálu rostliny je v současné době hojně diskutovanou možností alternativní ochrany hospodářsky významných plodin. Nelze ale v této souvislosti pominout některé negativní důsledky spuštěné obrany, kterými jsou často menší vzrůst a nižší výnosy.

Disertační práce je koncipována jako komentář ke dvěma publikacím, u nichž je disertantka prvním autorem a je doplněna o některé nepublikované výsledky. Úvodní rešeršní část čítá 20 stran, komentované výsledky 17 stran, práce je opatřena 248 citacemi a přílohou jsou dvě zmíněné publikace.

Práce v podstatě zahrnuje dva tematické okruhy. První je věnován studiu signálních drah spouštěných elicitory a to u dvou rostlinných druhů, tabáku a révy vinné. Druhá část se zabývá proteomickou a transkriptomickou analýzou buněk suspenzní kultury révy vinné po přidavku mycelia *Botrytis cinerea* a mechanickém stresu.

Cíl práce tak jak je uveden, tj. „sledování obranné reakce rostlin za pomoci tzv. molekulárních mrkerů....“ nevystihuje úplně dobře to, o co se v práci jedná především. To jsou dle mého soudu signální dráhy spouštěné elicitory a nebo elicitory v kombinaci s mechanickým stresem. Vlastní obranná reakce rostlin, tedy účinek elicitorů na rozvoj infekce sledován nebyl.

U rostlin a buněk suspenzní kultury tabáku byly sledovány změny v produkci fytohormonů, sperminu a PR proteinů a účast reaktivních forem dusíku a kyslíku po působení ergosterolu. U buněk suspenzní kultury révy vinné byla po působení ergosterolu v kombinaci s endogenními elicitory, oligogalakturonidy sledována alkalizace média, produkce ROS, SA a fytoalexinu resveratrolu.

Proteomickou analýzou buněk révy vinné ošetřených myceliem *B. cinerea* byla nalezena řada zástupců proteinů vyskytujících se typicky u révy vinné infikované *B. cinerea* (chitinasy, β -1,3-glukanasy, PR proteiny 10).

K práci mám několik připomínek a dotazů:

Literární část zahrnuje sice značně vysoký počet odkazů na literaturu, ale disertantka nejde příliš do hloubky a navíc působí tato část poněkud nevyváženým dojmem. Vzhledem k tomu, že je například značná pozornost věnována fytohormonům regulujícím odezvu rostlin na biotický stres (SA a JA), bylo by vhodné věnovat odpovídající pozornost těmto látkám a signálním drahám, kterých se účastní. V textu věnovaném SA postrádám například některé současné a dosti přelomové poznatky o regulaci SA dráhy (např. Fu, Z.Q. et al. (2012) NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature* 486, 228-232). Postrádám také samostatnou kapitolu věnovanou endogenním a exogenním elicitorům, na něž je práce zaměřena především. Na druhou stranu jsou v této části popsány všechny typy abiotických stresů, přičemž např. teplotní a solný stres je popsán relativně podrobně ve srovnání s mechanickým stresem, kterému jsou věnovány necelé 4 řádky s jedinou citací, přesto, že je jako jediný z těchto typů stresu v práci aplikován.

V práci není vysvětleno, proč byla u buněk suspenzní kultury révy vinné použita kombinace působení mycelia *B. cinerea* a mechanického stresu. Předpokládám, že disertantka ve svém vystoupení při obhajobě náležitě tuto část práce objasní.

Závěrem této části posudku bych ještě zmínila některé drobné nepřesnosti v textu: PAMPs nejsou jen strukturní motivy molekul vylučovaných mikroorganismy, ale jsou také součástí patogenů, nejčastěji jejich povrchových struktur (str. 10). Na straně 35 by pak bylo vhodné opravit tvrzení, že oligogalakturonidy vznikají štěpením celulasami.

Otázky:

1. V úvodu zmiňuje disertantka, že využití přirozených obranných systémů rostlin umožňuje „zvýšit zemědělské výnosy, aniž by do prostředí byly zanášeny cizorodé látky“. Dnes víme, že to není tak jednoduchý úkol, můžete prosím objasnit, jaké hlavní faktory limitují možnost využít tyto mechanismy k alternativní ochraně rostlin?
2. V práci se mnohokrát opakuje, že buňky suspenzní kultury byly infikovány myceliem *Botrytis cinerea*. Jak bylo ověřeno, že skutečně dochází k infikování buněk? Samotné

mycelium může samozřejmě fungovat jako elicitor a spouštět dráhy vedoucí k obranné reakci.

Závěrem mohu konstatovat, že formální a jazyková úroveň práce je na velmi dobré úrovni. I přes uvedené výhrady prokázala disertantka schopnost samostatné vědecké práce a jejího kritického zhodnocení, o čemž svědčí dvě prvoautorské publikace uveřejněné v časopisech s dobrým impakt faktorem. Studentka **prokázala** tvůrčí vědecké schopnosti. Práce **splňuje** požadavky obvykle kladené na disertační práce v oboru biochemie.

Práci doporučuji k obhajobě.

Prof.RNDR. Olga Valentová, CSc.

V Praze 16.4.2015