

OPONENSKÝ POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI

Mgr. Martina Kintlová (2022): Genetické aspekty příjmu těžkých kovů u ječmene. Disertační práce, Katedra buněčné biologie a genetiky, Univerzita Palackého v Olomouci

Předložená dizertační práce se zabývá vysoce aktuální problematikou reakcí rostlin na těžké kovy, konkrétně studuje biologické a genetické aspekty reakce rostlin na přítomnost těžkých kovů zejména zinku a kadmia.

Těžké kovy ve stopových množstvích jsou nezbytné pro zdravý vývoj a fungování člověka, zvířat, rostlin, hub a bakterií, kde hrají důležitou roli při metabolických procesech. Jejich nadlimitní koncentrace však mají škodlivé účinky nejen na rostliny, ale v podstatě na všechny organismy. Do životního prostředí se dostávají různým způsobem např. zinek jako výsledek důlní činnosti, při rafinaci zinku, olova nebo kadmia, ale také při výrobě oceli, spalování uhlí a odpadů. Významným zdrojem kadmia, uvolněného do půdy, jsou mimo jiné fosforečná minerální hnojiva, využívaná například při pěstování obilovin a řepky.

Schopnosti rostlin akumulovat těžké kovy můžeme využít k odstranění nebo snížení toxické zátěže těžkými kovy z životního prostředí. Tato schopnost rostlin však přináší i problém spojený s kontaminací potravního řetězce těžkými kovy, které se dostávají do půdy a vody a odtud do rostlinných orgánů používaných k výrobě potravin.

Abychom mohli tyto procesy spojené s příjmem a akumulací těžkých kovů kontrolovat případně i využívat, je nezbytné poznat genetické a buněčné aspekty jejich metabolismu. A právě to si klade za cíl předložená disertační práce.

FORMÁLNÍ HODNOCENÍ PRÁCE

Dizertační práce je sepsána v českém jazyce, její rozsah činí 63 číslovaných stránek. Přílohu práce tvoří tři autorské publikace a jedna prezentace na mezinárodním sympoziu formou posteru.

Text práce je členěn na číslované kapitoly 1. Literární přehled (33 stran), 2. Cíle práce (1 strana), 3. Výsledky (9 stran), 4. Literatura (145 záznamů) a 5. Příloha.

Kapitola Literární přehled je obsáhlá. V první části se zaměřuje na podrobnou charakteristiku ječmene setého (*Hordem vulgare* L.). Autorka práce však mohla lépe nakládat s literárním zdrojem Zimolka (2006). Čtenář se v dalším textu seznamuje s těžkými kovy přítomnými v půdě, jejich dostupností a významem pro rostliny. Následuje důležitá a zdařilá část zaměřená na popis příjmů kovů rostlinou, jejich transportu a detoxifikace v rostlině. Na závěr této části autorka stručně charakterizuje metody využívané ke studiu změn v genové expresi.

Cíle disertační práce jsou jasně definovány a jejich plnění je dobře kontrolovatelné.

Podstatu práce tvoří 2 prvoautorské, původní vědecké publikace v kvalitních časopisech (Frontiers in Plant science, IF 5,753 a Genomics data, IF 1,18), doplněné posterem prezentovaným na mezinárodním sympoziu (Plant Biotechnology: Green for Good III, 2015, Olomouc) a popularizačním článkem v časopisu Živa (jeden ze série 'Nové poznatky v genetice rostlin' oceněných článků časopisem Živa za rok 2017).

Palacky University, Olomouc | Czech Republic

Faculty of Science | Dept. of Cell Biology and Genetics

+420 585 634 900 | +420 585 634 901 (FAX)

Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc- Holic, Czech Republic

Kapitola Výsledky je zpracována poněkud netradičně a z mého pohledu ne zcela vhodně. V její první části je uveden souhrn výsledků zaměřených na hledání nových kandidátních genů zapojených do metabolismu těžkých kovů a vlivu těžkých kovů na buněčný cyklus, což je zcela v pořádku. Následuje však podkapitola 3.2 Publikace, kterou představuje seznam autorských prací a prezentací na konferenci, to samé se nachází na straně 63 jako kapitola 5. Příloha. Následují 3 strany, na kterých jsou kopie anglických abstrakt z přiložených článků, které najdeme v Příloze, bez jakéhokoliv komentáře.

HODNOCENÍ VLASTNÍ PRÁCE

Jak jsem již uvedl, základ disertační práce tvoří dvě kvalitní vědecké publikace, které jsou vhodně doplněny Literárním přehledem. Přes rozsah problematiky zpracovaným v Literárním přehledu je práce přehledná a dobře čtivá.

Zaměřuje se na hledání nových kandidátních genů zapojených do metabolismu těžkých kovů a objasnění jejich úlohy. Za nejvýznamnější považuji výsledky získané pomocí transkriptomatické analýzy. V rostlinách ječmene setého po ovlivnění kadmiem bylo v nadzemní části detekováno 10 282 a v kořenové části 7 104 rozdílně exprimovaných mRNA. Z nich se jevil jako nejvíce 'upregulovaný' *PCR2* gen, o kterém je známo, že se účastní detoxifikace těžkých kovů v rostlinách. Za přínosné považuji, že se podařilo v rostlinách poprvé najít ne jednu, ale čtyři kopie *HvPCR2* genu, které jsou různě 'upregulovány' v různých pletivech rostliny po jejím ovlivnění kadmiem.

Zajímavé jsou i výsledky zaměřené na studium buněčného cyklu po ovlivnění ječmene setého kadmiem, které poukázal na to, že hlavním důvodem redukce růstu kořenů je inhibice buněčného dělení na přechodu G1 – S fáze.

Oba výše uvedené výsledky považuji za nové, významnou měrou se podílející na odhalování mechanismů vlivu těžkých kovů na rostliny jak na buněčné, tak molekulárně-genetické úrovni.

Autorka zvolila pro studium vhodné metodické přístupy (molekulární biologie-transkriptomatická analýza a bioinformatika, cytometrie), které zvládla. Zdůrazňuji, že realizace experimentů byla velice pracná, náročná na čas i přesnost.

Mohu konstatovat, že autorka práce naplnil stanovené cíle: 1) identifikovala rozdílně se exprimující geny po ovlivnění rostlin ječmene setého kadmiem, mezi nimi identifikovala geny související s metabolismem reaktivních forem kyslíku, s membránovým transportem, se stresovou odpovědí a metabolismem buněčné stěny. Za jedinečné lze považovat nalezení pěti kopií genu *HvPCR2*, přičemž čtyři z nich se nacházejí v tandemové repetici na chromozomu 5H. 2) Výsledky naznačily, že redukce růstu kořenů ječmene po ovlivnění kadmiem je spojena se zastavením buněčného cyklu v G1 fázi.

Interpretace získaných dat v předložené disertační práci a závěry dokládají vysokou erudovanost doktoranda a dobrou znalost studované problematiky.

Po formální stránce, pře výše uvedené připomínky, je práce sepsána pěkně s minimem překlepů.

DOTAZY A NÁMĚTY PRO DISKUSI

Nejdříve jedna poznámka:

- Domnívám se, že věta na str. 45 'Analýza diferenciální genové exprese ' mohla být v češtině formulována lépe.

Otázky:

1. Mohla byste zhodnotit svůj podíl na získaných výsledcích (ne procentuálně, ale významem) a uvést jeden/dva výsledky, které považuje za nejvýznamnější?
2. Proč jste si vybrala právě tyto 3 těžké kovy: měď, zinek a kadmium.
3. Na straně 48 jste udělal závěr: Tato práce jasně ukazuje, že adaptace na abiotických stres může vést přes multiplikaci efektorových genů v genomu.
 - Do jaké míry je toto tvrzení spekulativní a do jaké míry se může opřít o analogické již publikované výsledky.
 - Do jaké míry rezistence/tolerance/sensitivita k těžkým kovům byla ovlivněna nebo se změnila s domestikací?

ZÁVĚR

Doktorandka předložila kvalitní práci soustředící se na vysoce aktuální problematiku, a to studium genetických a buněčných aspektů rezistence ječmene vůči těžkým kovům. Podařilo se prohloubit poznatky o funkci variant *HvPCR2* genu a stanovit změny v buněčném cyklu vedoucí k redukci růstu kořenů ječmene. K získání dat a jejich analýze použil recentní pokročilé metody. Výsledky je možné hodnotit jako nové, rozšiřující stávající poznání o reakci rostlin na stres vyvolaný těžkými kovy.

Jsem přesvědčen, že studentka naplnila vytyčené cíle a přes uvedené připomínky prokázala své tvůrčí schopnosti a předkládá práci, která splňuje požadavky kladené v daném oboru na disertační práci. Proto práci Mgr. Martiny Kintlové doporučuji k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby pak doporučuji udělení akademického titulu 'philosophiae doctor' (Ph.D.)

V Olomouci 17.3.2022

prof. RNDr. Milan Navrátil, CSc.

