

Posudek na doktorskou disertační práci

Kučerová, Z. (2020): Biological Activity of Substances with Strong Antisenescence Effect.
Doktorská disertační práce, Univerzita Palackého v Olomouci, 86 s.

Začlenění práce do současných směrů výzkumu

Předkládaná doktorská disertační práce Mgr. Zuzany Kučerové se zabývá problematikou senescence listů, a to z hlediska interakce cytokininů s fyziologickými procesy spojenými se senescencí listu, jako je například degradace chloroplastů, molekul chlorofylu a inhibice primárních (fotochemických) a sekundárních (biochemických) procesů fotosyntézy. Ve své práci se autorka zaměřila na účinky exogenně dodaných cytokininů: (a) BAPA, (b) 3OHBAPA, (c) 3MeOBAPA na fotosyntetický aparát v listech *Arabidopsis thaliana* a *Triticum aestivum*. Za velmi záslužné považuji, že se soustředila na antisenescenční účinky těchto látek a indikaci jejich působení v chloroplastech pomocí různých biofyzikálních metod, zejména indukované fluorescence chlorofylu *in vivo*. Za další velké pozitivum práce lze považovat fakt, že hojně využila metodu *chlorophyll fluorescence imaging*, která umožňuje nejen stanovit integrální hodnotu jednotlivých parametrů fluorescence chlorofylu pro jednotlivý list, ale rovněž poskytuje možnost studovat prostorovou heterogenitu odezvy na ovlivnění cytokininy na ploše listové čepele. V souladu se současnými trendy v této oblasti výzkumu interakce cytokininů a primárních procesů fotosyntézy se ve své práci zaměřila i na další indikátory metabolické aktivity ovlivněných rostlin/listů, a to tvorbou etylenu a markerů oxidativního stresu v rostlinných pletivech. Její práce je v souladu s nejnovějšími poznatky o interakci biosyntézy cytokininů s fyziologickými procesy doprovázejícími senescencí listů. Práce Mgr. Zuzany Kučerové přináší zjištění o pozitivním, anti-senescenčním účinku zkoumaných cytokininů.

Formální aspekty práce

Celý text předkládané disertační práce je psán dobrou angličtinou, čtivou a věcně přesnou. Rovněž oceňuji velmi dobrou gramatiku, text práce je totiž prakticky prostý jazykových chyb typických pro českého autora/-ku píšícího/píšící anglicky.

Ke kladům formální stránky práce rovněž přičítám fakt, že strukturní vzorce cytokininů, uváděné v úvodních pasážích jsou prezentovány v dostatečně vysokém rozlišení a velikosti neboť u podobných prací se neřídka setkáváme s nízkou kvalitou obrázků tohoto typu. S ohledem na odborné zaměření disertační práce je v textu velké množství zkratk, které autorka pro snadnější orientaci a celkovou příjemnost čtení velmi dobře formálně rozlišila tím, že názvy genů jsou uvedeny kurzívou, zatímco ostatní zkratky jsou uvedeny normálním písmovým fontem. Rovněž oceňuji, že autorka u metod a měření, které v rámci týmové práce sama nepoužívala, uvedla v úvodní části práce jména kolegů, kteří příslušná měření/analýzy dělali (s. 24-30).

Přesto mám k formální stránce práce několik drobných výhrad. Poněkud neobvykle působí formální způsob psaní slova 'Arabidopsis' běžným písmovým fontem, nikoli, jak je obvyklé kurzívou, a to i navzdory faktu, že v přiložených publikacích je toto slovo takto formálně psáno (Arabidopsis) viz publikace (Int. J., Mol. Sci.) Jako celek však působí doktorská disertační práce po formální stránce velmi dobrým dojmem, má dobré formální členění a proporce jednotlivých částí.

Odborné aspekty práce

Předkládaná doktorská disertační práce splňuje všechny náležitosti a po odborné stránce vyhovuje standardu kladenému na práce tohoto typu. Velmi oceňuji soubor metod, které autorka použila pro zkoumání vlivu exogenně dodaných cytokininů na fotosyntetické procesy. Odborná kvalita práce je vysoká, neboť výsledky v práci uváděné jsou součástí 2 odborných článků publikovaných v kvalitních vědeckých časopisech. Po odborné stránce nemám k textu předkládané doktorské disertační práce žádné výhrady. Výsledky jsou velmi dobře prezentovány a interpretovány, jakkoli je studium a poznání interakce cytokininů a primárních fotochemických procesů fotosyntézy složitou záležitostí. K hlavním zjištěním, která práce přináší, patří, že CK arabinosidy mají vysokou antisenescenční aktivitu a vykazují významné ochranné účinky na fotosyntetický aparát. S ohledem na charakter a odborné zaměření práce mám k autorce několik otázek (viz níže).

Otázky pro obhajobu:

- Na obrázku č. 9 na straně 39 uvádíte graf nárůstu hodnot efektivního kvantového výtěžku fotosystému II (Φ_p) v závislosti na délce ozáření během indukce fluorescence chlorofylu. Vykazuje, podle Vás, varianta 3MeOBAPA vyšší rychlost růstu Φ_p než ostatní varianty v čase 30-90 s, tedy v oblasti, kde Φ_p roste lineárně?
- Rozborem parametrů indukční kinetiky fluorescence chlorofylu OJIP jste zjistila nárůst hodnoty relativní výšky vlny 'J' (Vj v Obr. 19) ve variantách s přidavkem cytokininů oproti kontrole. V textu na s. 56 jste tuto reakci vysvětlila narušením funkce PSII, zejména snížením schopnosti přenést absorbovanou energii na primární akceptor Q_A . Nicméně, ve variantě s přidavkem 3OHBAPA k tomuto nárůstu Vj dochází pouze u *A. thaliana*, zatímco u listů *T. aestivum* nikoli. Naopak, u *A. thaliana* jsou hodnoty Vj srovnatelné s kontrolou. Mohla byste vysvětlit tuto rozdílnou reakci Vámi studovaných dvou experimentálních druhů rostlin?
- Jak si vysvětlujete fakt, že navzdory vysokým hodnotám kvantového výtěžku procesů nefotochemického zhášení (Φ_{NPQ}) srovnatelným ve variantách kontrola a 3OHBAPA (Obr. 20, s. 59), které indikují podobné zapojení fotoochranných mechanismů, jsou hodnoty efektivního kvantového výtěžku fotosystému II (Φ_p) výrazně nižší u varianty 3OHBAPA než u rostlin kontrolních?
- Mohla byste pro potřeby obhajoby, popřípadě do následné odborné rozpravy, doplnit informaci, jak na jednotlivá ovlivnění přidavky DMSO, BAP, 3OBAPA a 3MeOBAPA reagují hodnoty DEPS, které často indikují míru stresu a aktivaci ochranných mechanismů zahrnutých do nefotochemických dějů zhášení fluorescence chlorofylu? Zdrojový obrázek č. 26 na s. 67.

Celkové hodnocení

Doktorskou disertační práci Mgr. Zuzany Kučerové hodnotím velmi vysoko, neboť je zřejmé, že v průběhu celého DSP studia odvedla veliký kus práce při měřeních v laboratoři, ať již samostatně nebo v rámci širší pracovní skupiny. Velmi oceňuji fakt, že výsledný text práce odráží skutečně multidisciplinární a v užším slova smyslu i 'multimetodický' přístup k řešené problematice. Téma práce a zaměření jednotlivých experimentů svědčí o promyšlené koncepci a velmi dobrém vedení

doktorandky její školitelkou. Rovněž dobře hodnotím fakt, že doktorandka využila vynikajících instrumentálních a metodických možností, které jsou k dispozici na mateřském pracovišti (Katedra biofyziky UP Olomouc, Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum) a pojala svoji studii velmi komplexně. Musím konstatovat, že všechny výše uvedené aspekty se odrazily ve vysoké kvalitě předkládané doktorské disertační práce. Proto ji hodnotím jako výbornou a rád ji doporučuji k obhajobě.

V Brně, 20.1.2021



Prof. Miloš Barták

PřF MU Brno

Ústav Experimentální biologie

Oddělení fyziologie a anatomie rostlin

Univerzitní Kampus Brno-Bohunice,

Budova C13

Kamenice 5

62500 Brno