



Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.
Laboratoř hormonálních regulací u rostlin
Rozvojová 263, 165 02 Praha 6
Doc. RNDr. Radomíra Vaňková, DSc.
tel.: 220 390 427
e-mail: vankova@ueb.cas.cz

**Oponentský posudek Ph.D. disertační práce předložené v doktorském studijním programu
Experimentální biologie rostlin na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy**

Jméno studenta: **Mgr. Marek Šustr**

Název práce: **Vysokoafinitní přenašeče KT/HAK/KUP v rostlinách**

Jméno a afiliace oponenta: doc. RNDr. **Radomíra Vaňková**, DSc., ÚEB AV ČR

Disertační práce Mgr. Marka Šustra je zaměřena na studium transportérů draslíku (K^+), zejména *AtKUP9* a *AtKUP7*. Jejich vliv na růst kořenového systému při deficienci K^+ byl studován pomocí připravených mutantů. Dále byla lokalizována exprese *AtKUP9* v rostlině a zjištěna její výrazná stimulace v případě nedostatku K^+ . Pomocí mutantu *atkup9* byl zjištěn vliv tohoto transportéru na transport sacharidů. Studium *AtKUP7* bylo zaměřeno na objasnění jeho úlohy v transportu cesia. I když mutant vykazoval snížený příjem a transport cesia, nebylo zjištěno zvýšení tolerance vůči tomuto toxickému alkalickému kovu. Mgr. Šustr se rovněž podílel na charakterizaci adaptace *Arabidopsis arenosa* na hadcové půdy, které byly simulovány snížením poměru Ca/Mg. Byla studována zejména úloha *AtKUP9*, který byl zjištěn jako kandidátní gen podílející se na adaptaci.

Cíle práce jsou formulovány přehledně a bylo dosaženo jejich plnění. Práce obsahuje řadu hypotéz, které byly v průběhu řešení práce ověřovány. Metody jsou uvedeny pouze v rámci tří publikovaných experimentálních prací. Vzhledem k tomu, že všechny práce prošly úspěšně recenzním řízením, je zřejmé, že metodiky odpovídají sledovaným tématům. Experimenty, popsané v publikovaných pracích, jsou v souladu se stanovenými cíli. V disertační práci jsou uvedena pouze stručná shrnutí prací, včetně přehledného článku zaměřeného na transport draslíku a odezvu na jeho deficienci. Přehled literatury je dostatečný, práce jsou správně citovány. Diskuse se věnuje úloze jednotlivých transportérů K^+ při odezvě na jeho nedostatek, zejména růstu kořenového systému, lokalizaci těchto transportérů, dále vlivu transportérů na akumulaci sacharidů v různých částech rostlin. Dosažené výsledky jsou diskutovány v souvislosti s příjmem a

transportem cesia. Rovněž je diskutována úloha transportérů K^+ při interakci rostlin s prostředím, jak při nedostatku živin, tak při zamoření půd toxickými kovy. Doktorand rovněž naznačuje další směry výzkumu.

Formální úroveň práce je velmi dobrá. Uvedené obrázky jsou pěkné a ilustrativní, ale mohly být prezentovány ve větším množství (celkem 4). Konkrétní přínos doktoranda je u každé publikace podrobně specifikován a ukazuje jeho zásadní podíl na řešení studované problematiky. Překládaná práce dobře přispívá ke studiu transportérů K^+ . Objasnění možností modulace příjmu a transportu cesia, případně jiných kovů, by mohlo být využito jak při pěstování plodin na kontaminovaných půdách, tak při fytořemediaci těchto půd.

Dotazy:

- 1) Na str. 13 je AtAKT1 uveden jako nízkoafinitní transportér, ale na str. 15 je popsána jeho aktivace prostřednictvím AtCIPK23 a jeho působení při nízké koncentraci draslíku. Může tedy AtAKT1 fungovat rovněž jako transportér s vysokou afinitou?
- 2) Na str. 16 je uvedeno, že AMP-cyklázová aktivita AtKUP5 a AtKUP7 může být spjata s rychlostí transportu K^+ . Na str. 19 je uvedeno, že cAMP-dependentní protein kináza A mění mechanismus působení AtAKT2. Ovšem níže na str. 19 je uvedeno, že produkce cAMP nesouvisí s transportem K^+ . Jakou funkci tedy předpokládáte u adenylát-cyklázové aktivity AtKUP5 a AtKUP7?
- 3) Exprese *AtKUP9* byla zjištěna v listových čepelích a vaskulatuře (str. 21). Jakou funkci AtKUP9 předpokládáte v nadzemní části? Jak si vysvětlujete skutečnost, že mutant *atkup9* transportuje více K^+ a sacharidů (str. 25) i Cs^+ (str. 36)? Souvisí to s hypotézou, že AtKUP9 je negativní regulátor odezvy kořenů na nedostatek K^+ (str. 30)? Jakým mechanismem?
- 4) Jak si vysvětlujete rozdíl v transportu iontů u mutantů *atkup7 in vitro* a v hydroponii (str. 26)?
- 5) Na str. 29 je uvedeno, že deficiencie K^+ obvykle potlačuje růst kořenů (na rozdíl např. od deficiencie N), na str. 30 je uvedeno, že nedostatek K^+ zvyšuje větvení postranních kořenů, zatímco na str. 31 je popsáno, že růst laterálních kořenů je potlačen. Mohl byste specifikovat podmínky u jednotlivých typů odezvy?

Komentáře:

Str. 5 - CTR není „Constitutional“ triple response, ale „Constitutive“

Str. 11 – „Weak“ rectifying channel, pravděpodobně spíše „Weak“

Str. 13 a další – v angličtině se používá „decimal point“, tedy desetinná tečka, nikoliv desetinná čárka jako v češtině

Závěr: Přes uvedené otázky pokládám předloženou práci za dobrou, splňující všechny předpoklady pro úspěšnou obhajobu, proto ji doporučuji k obhajobě.

Praha, 18. 3. 2024

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "A. Křížová".