

Oponentský posudok

Autor práce: Mgr. Ildikó Matušiková, PhD.

Názov habilitačnej práce: Molekulárna fyziológia odpovede rastlín na environmentálne stresy.

Pracovisko: Katedra ekochémie a rádioekológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave.

V prirodzenom prostredí sú rastliny vystavené pôsobeniu viacerých abiotických a biotických faktorov, ktorým musia odolávať alebo sa na ne musia adaptovať. Vo všeobecnosti rastliny reagujú na podnety z okolia veľmi flexibilne v závislosti od intenzity, trvania a komplexity stresu, ako aj v kontexte času a priestoru.

Štúdium molekulárno-fyziologickej odpovede rastlín na environmentálne stresy, ktorému sa venuje habilitačná práca, sa realizovalo v dvoch líniách (i) na základe využitia metódy komparatívnej transkriptomiky, ktoré habilitantka komplementovala prislúchajúcimi údajmi morfológických a fyziologických zmien v rastlinách, a (ii) sledovaním obranných mechanizmov rastlín v kontexte času, charakteru a intenzity pôsobenia abiotických a biotických stresorov a priestorovej alokácie obrany v rastlinách. Parciálne výsledky sa publikovali v periodikách, ktoré tvoria prílohu habilitačnej práce a zároveň sú zhrnuté a stručne komentované v textovej časti práce. Habilitantka sa počas svojej doterajšej vedeckej kariéry venovala viacerým modelovým druhom rastlín, ktoré predstavujú rôzne životné formy (byliny - plodiny, ovocné a lesné dreviny, mäsožravé rastliny) a využila abiotické (sucho, extrémne teploty, toxické kovy) aj biotické stresory (bakteriálne ochorenie spôsobené patogénom *Erwinia amylovora*). Pri týchto štúdiách sa vychádzalo z poznatkov, že adaptácia rastlín na environmentálne stresy je kontrolovaná kaskádou molekulárnych sietí, ktoré umožňujú preprogramovanie metabolizmu a génovej aktivity v záujme nadobudnutia novej rovnováhy medzi rastom, vývinom a prežitím rastlín. Pre komplexné zachytenie zmien aktivít celých súborov génov (transkriptómov) rastlín pri adaptačných zmenách sa preto využívajú metódy transkriptomiky a sekvenovanie novej generácie (NGS). Tieto výsledky sa získali v rámci študijných pobytov vo výskumnom centre „Austrian Research Centres Seibersdorf“ v Rakúsku. Dôležitým zistením je, že v prípade biotického stresu je rýchle rozpoznanie patogéna kľúčom ku včasnej a efektívnej obrane. Konštitutívne prítomný obranný aparát (napr. vosk na povrchu listov, bunková stena, antimikrobiálne sekundárne metabolity)

predstavujú prvú líniu obrany a spomalenia šírenia patogénov, zároveň tiež vytvárajú časový priestor pre indukovateľnú obranu.

Efekt mierneho, krátkodobého sucha sa študoval u rastlín papriky ročnej (*Capsicum annuum* L.), ktorá sa považuje za jednu z najcitlivejších plodín na nedostatok vlhky, keď reaguje na tento stres poklesom biomasy, počtu kvetov aj plodov. Detegovala sa potlačená aktivita génov spojených s fotosyntézou, ale naopak zaznamenala sa zvýšená aktivita génov antioxidantného systému, signalizačných kináz a transkripčných faktorov. Z obranných proteínov sa zistila výrazná aktivácia génu pre hydrín, pre chitinázu triedy II a gén pre PR-protín 8. Získané výsledky ukázali, že korene a listy papriky prejavili výrazné rozdiely v stratégii obrany voči suchu, pričom akumulácia niektorých osmoticky aktívnych látok sa v týchto rastlinných orgánoch líšila amplitúdou aj charakterom zmien.

Vplyv dlhodobého sucha u duba letného (*Quercus robur* L.) sa sledoval v kontrolovaných podmienkach (skleník), pričom sa sucho navodilo v dvoch cykloch po dobu 2 rokov. Potvrdilo sa, že výsledky získané v kontrolovaných podmienkach nemožno vždy interpretovať pre podmienky prirodzeného prostredia, keď sa v rastlinách duba aktivujú vysoko flexibilné, ale striktné regulované obranné mechanizmy s cieľom vyhnúť sa ireverzibilným zmenám a umožniť efektívne zotavenie sa rastlín. Navyše, v prirodzenom prostredí sú rastliny vystavené pôsobeniu viacerých stresorov, ktorým musia odolávať alebo sa musia na zmenené podmienky adaptovať, pričom niektoré samotné stresové faktory majú mnohoraký účinok. Habilitantka ako typický príklad uviedla vietor, ktorý v prirodzených podmienkach spôsobuje kontinuálnu mechanickú perturbáciu rôznej intenzity počas celého životného cyklu rastliny. Zdôraznila, že okrem mechanického tlaku na pletivá tento stresový faktor spôsobuje zmeny teploty, koncentrácie CO₂ na povrchu listov a intenzívne vysušuje povrch rastlinných orgánov, vyvoláva typické fyziologické, morfológické a biochemické reakcie. Zároveň skonštatovala, že pôsobenie vetra na molekulovej úrovni doteraz študované nebolo. Výsledky s topolom čiernym (*Populus nigra* L.), publikované v práci uvedenej v prílohe IV, sú cennými údajami potvrdzujúcimi aktiváciu antioxidantných enzýmov, dehydrínov, šaperónov, či génov pre syntézu sekundárnych metabolitov.

Rastliny disponujú okrem špecifickej rezistencie prostredníctvom R génov aj tzv. bazálnou rezistenciou. Tento typ obrany je spúšťaný rôznymi zložkami bunkových stien, ktoré sa vytvárajú v dôsledku aktivity hydrolytických enzýmov prítomných mikroorganizmov. Ide preto o nešpecifický mechanizmus obrany rastlín, ktorý spúšťajú aj nepatogénne mikroorganizmy.

Rastliny využívajú limitovanú sadu obranných mechanizmov, ktoré sa sčasti pri rôznych typoch stresu prekrývajú. Kým odolnosť (rezistencia) na biotický stres je monogenetická vlastnosť, geneticky sú odpovede na abiotický stres multigénové, a teda oveľa komplexnejšie a ťažšie regulovateľné (modifikovateľné). Primárne abiotické stresy (napr. sucho, suboptimálne teploty, toxické látky) navyše pôsobia často paralelne. Habilitantka sa tiež venuje remodelácii primárneho metabolizmu, keď sa aktivujú enzýmy pre syntézu aminokyselín, polyamínov, sacharidov a hydroxysacharidov.

Množstvo informácií o odpovediach rastlín na stresy sa enormne zvyšuje aj vďaka novým technológiám, ktoré prebiehajúce zmeny v rastlinách analyzujú komplexne. Programy pre sekvenovanie genómov a vysokopočtové analýzy umožňujú vytvorenie a integráciu nových vedných disciplín akými sú genomika, proteomika či metabolomika (tzv. „omics“). Napriek veľa údajom a užitočným náhľadom, ktoré umožňujú, však ani tieto prístupy neprinášajú dostatočne komplexný, či úplný opis zmien, ku ktorým v rastlinách pri strese dochádza. Aký prínos z tohto aspektu vidí habilitantka medzi rastlinnou fyziológiou a molekulárnou biológiou a aká je perspektíva štúdia molekulárnej fyziológie odpovede rastlín na environmentálne stresy?

Z hľadiska vedeckého poznania osobne považujem za najzaujímavejšie výsledky štúdia s mäsožravou rastlinou rosičkou okrúhloolistou (*Drosera rotundifolia* L.), keď sa získali prvé výsledky potvrdzujúce úlohu chitináz a následne aj β -1,3-glukanáz v tráviacich žľazách rosičky, pričom autori ako prví poukázali na ich rastlinný a nie bakteriálny pôvod. Transkript génu chitinázy autori detegovali priamo v indukovaných hlavičkách tráviacich žliaz, čo potvrdilo úlohu týchto obranných proteínov pri dekompozícii koristi. β -1,3-glukanáza triedy V. predstavuje unikátny príklad génu s neobrannou funkciou, ktorý koptoval pre syndróm mäsožravosti. Sekvencia génov pre chitinázy a glukanázu z rosičky tak poskytla dôležité východiská nielen pre evolučné štúdie, ale aj pre detailnejšie analýzy potenciálne možnej multifunkčnej úlohy týchto enzýmov.

Dovoliť si niekoľko otázok, resp. námietok do diskusie:

♣ str. 24: habilitantka si sama položila otázku, „či a do akej miery je možné naoko rozličné dáta interpretovať do zmysluplnej univerzálnej znalosti, ktorú by bolo možné pretaviť do nemodelových druhov a aplikovateľnej praxi“. Keďže sa v habilitačnej práci odpoveď na položenú otázku nenachádza, dovoľím si ju položiť habilitantke v tomto posudku.

- ♣ str. 26: aké sú perspektívy využívania LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteínov v stresovej fyziológii rastlín ?
- ♣ str. 31: aký je molekulárny mechanizmus reakcie rastlín na toxické kovy ?
- ♣ vychádzajúc z vašich doterajších štúdií, ktoré z modelových druhov rastlín považujete za najvhodnejšie pre váš ďalší výskum zameraný na molekulárnu fyziológiu odpovede rastlín na environmentálne stresy ?
- ♣ str. 33: uvádza sa, že „Obranné proteíny v rastlinách predstavujú arzenál využívaný nielen pre adaptáciu k nepriaznivým podmienkam, ale aj na procesy spojené s normálnou morfológiou a vývin. Preto ich ciele štúdium predstavuje dobrý modelový systém pre štúdie integrácie kľúčovej dilemy rastlín: uprednostniť rast alebo obranu“. Aký názor na otázku „uprednostniť rast alebo obranu,“ má habilitantka ?
- ♣ možno v prírodných podmienkach rozlíšiť a následne porovnať význam primárnych abiotických stresov so sekundárnymi abiotickými stresmi?

Záver:

Habilitačná práca je odborne adekvátnym a dôstojným podkladom pre habilitačné konanie, pretože je teoreticky, metodicky a experimentálne na vysokej úrovni a prináša poznatky nielen motivujúce k ďalšiemu výskumu, ale aj k nájdeniu ich uplatnenia v praxi. Predložená habilitačná práca Mgr. **Ildikó Matušikovej, PhD.** spĺňa v rámci habilitačného konania požiadavky na ňu kladené. Kvalita predložených výsledkov, spracovanie a ich interpretácia, ako aj scientometrické parametre a pedagogická aktivita jednoznačne potvrdzujú, že Mgr. Ildikó Matušiková, PhD. je zrelou vedeckou osobnosťou s bohatými pedagogickými skúsenosťami. Na základe uvedených skutočností odporúčam, aby bola habilitačná práca schválená a na základe vyhlášky MŠ č.6/2005 Z. z. bol Mgr. Ildikó Matušikovej, PhD. udelený vedecko-pedagogický titul „**docent**“ v študijnom odbore 4.2.3. molekulárna biológia.



Bratislava 08.01.2019

Prof. RNDR.Elena Masarovičová,DrSc.