

Bírálat

Poór Péter

„A szalicilsav által szabályozott növényi védekezési válaszok és az intracelluláris oxidatív stressz vizsgálata”
címmel benyújtott MTA doktori értekezéséről

készítette: Várallyay Éva

Örömmel vállaltam Poór Péter MTA doktori értekezésének bírálatát. Poór Péter 2011 óta dolgozik oktatóként a Szegedi Tudományegyetemen, ahol már előtte mind a BSc, mind az MSc értekezéséhez szükséges kutatásokat végezte, így összességében több mint 20 éve kutat azon a tanszéken, amelynek ma már ő a vezetője.

A doktori értekezés a téziszűzetben található információk alapján 16 szakcikk tudományos eredményeit foglalja össze. Poór Péter ezen 16 szakcikk mindegyikében meghatározó szerző: hét esetben első, míg 14 esetben levelező szerző. A szakcikkek a szakma rangos folyóirataiban jelentek meg. A doktori értekezés a tézisektől függetlenül is életképes kell legyen, ezért nagyon hiányoltam az értekezésből a dolgozat témájául szolgáló szakcikkek felsorolását és az eredmények bemutatásakor az eredeti szakcikkekre való hivatkozásokat. Az opponens feladata a dolgozat bírálat, függetlenül a tézisektől (a jelölt habitusát egy független fórum méri), az, hogy mely eredmény melyik publikációban került közlésre, nagyon fontos információ lett volna.

Poór Péter szakmai felkészültsége, kutatói teljesítménye és publikációs aktivitása: Scopus 99 dokumentum, 2744 hivatkozás, Hirsch-faktor: 30; elismerést érdemlő.

A doktori értekezés Poór Péter azon kutatásait foglalja össze, melyekben a szalicilsav által szabályozott válaszok SA kezelésre adott válaszait (ROS-szignálizációra, az ehhez kapcsolódó enzimek és azokat kódoló gének aktivitására, a fotoszintetikus aktivitásra, ER-stresszre) vizsgálja.

A kérdés érdekes és fontos, hiszen ezekről a folyamatokról még mindig keveset tudunk. A kérdés megválaszolására használt kutatási módszerek időszerűek, előre mutatóak.

A doktori értekezés hagyományos szerkezetű, melyben bevezető, irodalmi áttekintés, kutatási célok megfogalmazása után olvashatjuk a felhasznált anyagokat, módszereket, a kapott eredményeket, azok megvitatását és összefoglalását. Az új tudományos eredmények fejezet helyett egy tézisek fejezetet tartalmaz, amit én nem tartok szerencsésnek. Részletesebb kritikám erről később található. Az eredmények leírása és értékelése külön fejezetben történt. Mivel az MTA doktori értekezés formátuma nem kötött, az eredmények és értékelésük együtt való tárgyalása nagyban megkönnyítette volna a komplex folyamatok megértését.

Az értekezés nyelvezete gördülékenysége ellenére is nagyon nehezen olvasható. A kutatások kezelése során rengeteg egymással nem szorosan összefüggő paramétert vizsgáltak, így nemcsak az eredmények értékelése, hanem sokszor a kísérleti beállítások is igen bonyolultak.

A dolgozat alapvetően precízen összeállított munka, de pl. az eredmények fejezetének számozása hibás (nem 4., hanem 5. fejezet ez). Egy utolsó átolvasás beadás előtt segített volna az általam a továbbiakban nem javított hasonló sajtóhibák kiküszöbölésében.

A következőkben a dolgozat olvasása közben felmerült megjegyzéseimet, kérdéseimet foglalom össze.

1/Az anyag módszer fejezetében fontos lett volna ismertetni a kísérletek során használt mutáns növényeket, röviden leírva azt, hogy vajon az adott hormon termelésében vagy annak érzékelésében (receptor) mutánsok, kitérve arra is röviden, hogy az adott gén termelődésére null vagy feltételes mutánsokról van-e szó. Az eredmények részben erre vannak utalások (pl SA hiányos, hormonmutáns, JA inszenzitív, vagy akár transzgenikus növények (84. oldal)), de a kezelésekre adott válaszok pontos értelmezéséhez ennek ismerete szükséges.

2/A kitozán-kezeléseket különböző időpontokban (du 17.00, este 21.00 és hajnal 4.00) végzeték, de ezek után mindig adott időpontban (hajnal 5.00, reggel 9.00 és du 15.00) vettek mintát. Egy áttekintő táblázat, vagy ábra a sötét jelenlétéről és a kezelések, illetve a mintavételek időpontjáról nagyban segítette volna az értelmezést. A kezelést követő első mintavételekig eltelt idő minden kezelés esetében más (12h, 8h és 1h) volt. Lehetségesnek tartja, hogy 1 órával a kezelést követően nemcsak a hajnali 4 órai, hanem a délutáni és esti kezelést követően is nagyobb mértékű PR1-expressziót tapasztaltak volna, ahhoz hasonlóan, amit a reggel 8-kor elvégzett kezelést követően sötétben és fényben is tapasztaltak?

3/Kontrol növényekben a lokális választ mindig a felülről a 6. szint leveleiben, míg a szisztémikust a felülről 5. emelet leveleiben vizsgálták. Vajon a szisztémikus válasz esetében nem lett volna fontos a kontrollnövény szintén felülről 5. emeletén lévő levelek paramétereit is megmérni? Volt-e előző mérésük arra vonatkozóan, hogy e két levélemelet PR1 expressziója, sztóma átmérője, ROS paraméterei és Bip expressziója mennyire azonosak vagy csak feltételezték, hogy ezek között nincs jelentős eltérés?

4/A CHT-kezelést követően meggyőző Bip-expresszió növekedést mértek, ami ugyan korrelált, de nagyságrendjében elmaradt, amikor a BiB fehérje expressziós szintjével hasonlították össze. Lehetséges, hogy ez a válasz csak időben van lemaradva, és ha a kezelést követően 2 vagy 3 óra múlva mérték volna, jelentősebb lett volna? A 9. ábrán csak a BIP hibridizáció szerepel. Jól értem, hogy a membránt párhuzamosan anti-aktin-ellenanyaggal is hibridizálták, és a feltüntetett % az ehhez normalizált adatokat mutatja?

5/A 21.00 órás kezelés, véleményem szerint nem a sötét szakasz elején van, hiszen a sötét az anyag-módszer leírása alapján 18.00-kor kezdődik – így este 9-kor már 3 órája tart. Ezt a kezelést követően is megfigyelhető volt a PR1-indukció reggel 8 órakor, még hozzá a 17 órás

kezelések után mértékkel nagyjából hasonló mértékben. A 21 órás kezelés okozta a legnagyobb PR1-expressziós növekedést 12 óra után! Mi lehet ennek az oka?

6/ Az exogén SA-kezelések leírásánál szerencsésebbnek találtam volna, hogy ha az adott enzimaktivitás és a hozzá tartozó génextpressziós vizsgálatok egymáshoz kapcsolva szerepeltek volna. A génextpressziós változások ráadásul (pl. az SIRBOH₁ expressziójában) igen markánsan és fényfüggő módon történtek. Esetleg ismert az, hogy hány SIBOH-enzimet kódoló gén van a paradicsomban, és ismert-e ezek expressziójának szöveti vagy esetleg sejtszintű expressziója? Lehetséges-e, hogy különböző SBOH-ok a levélben időben és térben is antagonista módon szabályozódnak, és így az aktivitásméréskor csak ezen folyamatok eredőjét lehetséges mérni?

7/ Hasonló a kérdés a paradicsom katalázai (SIKAT₁₋₃) esetében. Itt a három gén expressziójának trendje azonos, de vajon a relatív transzkripciós szint egymáshoz képest hogyan viszonyul. Nagyságrendileg ezen gének expressziója megegyezik, vagy lehetnek különbségek?

8/ A kezelés gyökéren keresztül 24 órán keresztül történt, és ha jól értem, reggel 9-kor kezdődött. Hogyan kell értelmezni a fény és a sötét szerepét itt? A sötétben kezelt növények ezután végig, a 24 órás mintavételig sötétben maradtak? Nem lehetséges az, hogy ennek az elhúzódó sötétnek (ami hosszabb, mint a normál sötét periódus) is hatása van a mért adatokra?

9/ A hexokinázok szerepének vizsgálatával kapcsolatban: míg a normál fényviszonyok között mért HCK₁₋₄ génextpresszió korrelál a mért enzimaktivitással, a sötétben mért génextpressziós különbségek azonban nem magyarázzák az enzimaktivitásban mért különbségeket. Van esetleg magyarázat arra, hogy az öreg levelekben miért nő meg ilyen nagyon a HXK-gének expressziója?

10/ Míg a levelek korától függő HXK-változásokat normál fotoperiódusban és sötétben is vizsgálták, az SA hatását csak normál fotoperiódusban vizsgálták. Van-e hipotézise arra, hogy milyen változást detektáltak volna, az SA kezelést sötétben elvégezve?

11/ Többször utal rá, hogy a legerősebb napi ingadozást a HXK₁ és HXK₄ gének expressziója mutatta. Tudjuk-e, vagy becsülhető-e az, hogy ezen gének relatív expressziója mekkora egymáshoz és a másik két gén expressziójához képest? Kérdésem arra irányul, hogy vajon mennyire érvényesül az össz HXK expresszióban ez a jól megfigyelhető ingadozás.

12/ A hexonkináz aktivitás SA-kezelésre való változásánál nekem úgy tűnik, hogy az 1 mM SA hatására a hexonkináz aktivitás a fiatal levelekben megfigyelt görbéhez hasonlóan változik. Nem azt várnánk, hogy a kezelés hatására, mivel a stressz választ indukál, a levélben inkább az öreg levelekhez hasonlóan alakul a HXK-aktivitás, vagy rosszul gondolom?

13/ Az ER-stressz tanulmányozása kapcsán elvégzett kísérleteknél érdekesnek találtam, hogy a VT-növény 1 mM SA-val való kezelése kapcsán mind a plusz Tm, mind a plusz PBA kezelés hatására megnőtt a GSH-szint, míg ha a két extra kezelés együtt alkalmazták, a GSH-szint csökkent (36.ábra), de a GST-szint változásakor a hatás additívnak mutatkozott (37/D ábra). Hogyan magyarázható ez a változás?

14/ Az etilén hatását egy etilénreceptor-mutánsban (Never ripe) vizsgálták. Ha a mutánsban nincs etilénreceptor, hogyan hat a kívülről adott etilén, hogyan kell értelmeznünk az itt kapott választ?

15/ A kutatások során a NahG-növények kiemelt szerepet kaptak. Pontosan milyen mutáns ez?

16/ A GSH katabolizmussal kapcsolatban, a változások nyomonkövetésére az SLOXP és SIGGT gének expresszióját, míg a GR enzimet kódoló gének közül a SIGR₁-et és GR₂-t vizsgálták. Hány az adott folyamatban, vagy adott enzimet kódoló gén van a paradicsomban, és miért ezekre esett a választás?

17/ A ROS-ok Tm-mel indukált ER-stressz során betöltött szerepének vizsgálatakor a növényeket „normál fotoperiódus mellett sötétben is kezelték”. Mit jelent itt a sötét? A fotoperiódus kezdetéhez viszonyítva mikor történt a kezelés?

18/ A kapott válaszok rendszerszintű értelmezésére érdemes lett volna összegző ábrát készíteni, amin a vizsgált enzimek és az őket kódoló gének anyagcsere-kapcsolatai láthatóak – ez a kapott eredmények értelmezését nagyban segítette volna.

A felmerült kérdések a dolgozat értékét nem befolyásolják, csupán néhány kérdés pontosítását teszik lehetővé.

A 8. fejezetben összefoglalt tézispontok: összesen 21 túl részletesnek tűnnek; ezek összevonását, egyszerűsítését, általánosabb megfogalmazását és új tudományos eredményekként számozott pontokba foglalását javaslom. Az itt megfogalmazott új tudományos eredmények sokkal általánosabb, a részleteket ilyen mértékben nem tartalmazó, általánosabb, szintetizáló megfogalmazására lenne szükség. Mivel az eredményeket és az értelmezésüket a jelölt ismeri a legjobban, azt javaslom, hogy ezen pontok alábbi javaslatok alapján történő egyszerűsített (8–10 pont és max. 1 oldal) megfogalmazására is a jelölt tegyen javaslatot.

Néhány javaslat:

1/ (1-2 pont) Pl: „A kitozán kezelés több, SA-függő védekező folyamatot indukál: PR₁ és a BiP gének expresszióját, a sztómák záródását, a keletkező szuperoxid gyökönion mennyiségét befolyásolja, melyek mértéke függ a kezelés során jelenlévő fénytől.”

2/(3-6 pont) pl: „Az exogén SA kezelés drasztikusan megváltoztatta az endogén SA szintet, ami koncentrációtól függően befolyásolta a levél lipidperoxidációját, és az ionkirekesztés mértékét. Ezen változások mértéke csakúgy, mint a szuperoxid-gyökönion- és H₂O₂-indukció, sötétben szignifikánsan kisebb vagy változatlan maradt.” Az itt megfigyelt génexpressziós és enzimaktivitás-változásait is egy mondatban kellene megfogalmazni.

3/(7-9 pont) szintén fontos lenne két mondatban összefoglalni a tézisekben megfogalmazott eredmények lényegét

4/(10-13 pont) -ra is igazak a fenti kérések. A 10.pontban az a megfogalmazás szerepe: „...normál perióduson, és ami a meghosszabbított 24 órás sötétség hatására tovább

nőtt". Mivel a kezelés 9-kor történt, ami egy fényperiódusban van, szerintem ez így nem igaz, és így az átfogalmazott tézispontban már szabatosabban kellene megfogalmazni.

5/(14-21 pont) Hasonlóan a fentiekhez, egy általánosabb, szintetizáló eredménypont megfogalmazást javasolok.

Általános kérdéseim:

1/ A kitozán megvásárolható és akár hobbikertekben is használható biostimuláns. Eredményei alapján mit javasol, mikor érdemes a kitozánnal permetezni annak érdekében, hogy a növényben a legerősebb védekezési választ érjük el?

2/ A hormokezelések során a kezelőszert folyadékultúrában adták a növényhez. Vajon a gyökéren keresztül felszívott hormonok milyen arányban, mennyiségben jutnak el a levelekbe? Van-e, lehet-e jelentősége annak, hogy az adott hormon szintje a gyökéren és a szállítószöveteken keresztül, vagy egy biostresszor patogén támadása miatt közvetlenül a levélben indukálódik?

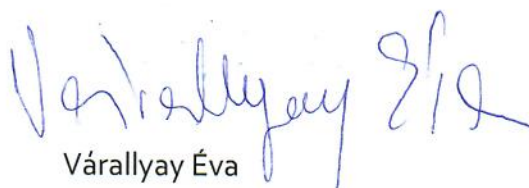
3/ A dolgozatban összefoglalt kísérletek során csupán közvetetten vizsgálta a növény védekezési folyamatait. Hogyan lehetne vizsgálni azt, hogy az adott kezelések valóban befolyásolják-e a növény biotikus, vagy abiotikus stresszekkel szembeni védekezését, és hogy erre vajon van-e hatása annak, hogy a kezelés a fotoperiódus mely szakaszán történik?

4/ A kezelések hatására történő változások nyomon követésére enzimaktivitás-méréseket és kiválasztott gének expresszióját vizsgálták. Tervezik-e nagyobb áteresztőképességű genomikai (nagy-áteresztőképességű szekvenálás) és metabolomikai mérésekkel tovább vizsgálni ezeket a kérdéseket? Mit gondol, érdemes lenne-e az RNS-interferencia folyamatok (miRNS-reguláció) változását is vizsgálni?

Mivel az új tudományos eredmények átfogalmazását javaslom és kérem, ezek elfogadásáról a válaszok ismeretében a nyilvános vita előtt, vagy azon szeretnék majd nyilatkozni.

A jelöltet és a munkáját alkalmasnak tartom a cím megszerzéséhez, a doktori értekezés nyilvános védésének kitűzését javaslom. Sikeres védés esetén pedig a legmesszebbmenően támogatom számára az MTA doktori cím odaítélését.

Gödöllő, 2026. április 28.



Várallyay Éva