



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta



Hodnocení bakalářské práce - oponent

| | |
|-----------------------------|---|
| Studijní program: | B4131 Zemědělství |
| Studijní obor: | Zemědělské biotechnologie |
| Akademický rok: | 2009/2010 |
| Název práce: | Detekce fytoplazem pomocí PCR amplifikace vybraných fragmentů fytoplazmového genomu |
| Student: | Jaroslava MARKOVÁ |
| Katedra: | Katedra rostlinné výroby a agroekologie |
| Vedoucí práce: | Mgr. Ondřej Lenz, Ph.D. |
| Oponent: | Ing. Jaroslava Příbylová, Ph.D. |
| Pracoviště oponenta: | ÚMBR AVČR, Oddělení rostlinné virologie |

| | Hlediska | Stupeň hodnocení | | | | | | Nelze hodnotit |
|----|--|------------------|---|---|---|---|---|----------------|
| | | A | B | C | D | E | F | |
| 1 | Splnění požadavků zadání | X | | | | | | |
| 2 | Aktuálnost a odborná úroveň práce | X | | | | | | |
| 3 | Práce s daty, informacemi a odbornou literaturou | X | | | | | | |
| 4 | Vhodnost metodiky řešení | X | | | | | | |
| 5 | Využití metod zpracování výsledků | X | | | | | | |
| 6 | Interpretace výsledků, diskuse | | X | | | | | |
| 7 | Formulace závěrů práce | | X | | | | | |
| 8 | Odborný přínos práce a její praktické využití | | X | | | | | |
| 9 | Přesnost formulací a práce s odborným jazykem | X | | | | | | |
| 10 | Formální úprava práce a jazykové zpracování | X | | | | | | |

Hodnocení vyznačte **X** (slouží pro stanovení výsledné klasifikace)

Konkrétní připomínky a otázky k obhajobě (pro rozšíření lze použít samostatnou označenou přílohu):

Viz Příloha

Závěr: Závěrečnou práci doporučuji obhajobě ~~(ANO/NE)~~:

Navrhovaná výsledná klasifikace práce (slovně):

výborně

(výborně, velmi dobře, dobře, nevyhově/a)

Datum

4. 5. 2011

Podpis oponenta

Jaroslava Příbylová

Příloha

Konkrétní připomínky a otázky k obhajobě

1. Kap. 1 ÚVOD – str. 9, 2. odst., posl. věta: „...referenční sbírky fytoplazmových kmenů udržované v barvínku“.
Otázka: Víte, o jaký druh barvínku se jedná? Fytoplazmy mají jako indikátor jeden konkrétní druh.
2. Kap. 2.2 Některé typické choroby způsobené fytoplazmami, str. 11.
Poznámka: Nevím, co rozumíte pod pojmem „typické choroby“. Uvedené fytoplazmové choroby jsou karanténní, jedná se o velmi závažná onemocnění.
3. Kap. 2.5.2 Elektronová mikroskopie, str. 15
Poznámka: Rozlišovací schopnost elektronového mikroskopu je minimálně 1000 x větší než u světelného mikroskopu (nikoliv pouze 100 x, zvětšení se používá až 500 000 x, ale je možné i daleko vyšší). Takováto formulace je ovšem velice nepřesná, protože rozlišovací schopnost elektronového mikroskopu se uvádí v nm: pro transmisní el. mikroskop je rozlišovací schopnost 0,1 nm, pro skanovací jsou to jednotky nm.
4. Kap. 2.5.3 Sérologické metody, Enzymová imunoprecipitační analýza (ELISA), str. 16, věta: „Mezi nejpoužívanější sérologické metody v detekci fytoplazem patří zejména různé modifikace ELISA testu“.
Poznámka: Komerčně jsou vyráběny pouze diagnostické soupravy na fytoplazmu zlatého žloutnutí révy vinné (FD), proliferace jabloně (AP), omezeně na stolbur a žloutenku aster (AY). Podmínkou je vysoká koncentrace fytoplazmy v rostlině, citlivost ELISA analýzy je nízká.
5. Tabulka 3: použité primery, str. 31
Otázka: Kdo je autorem uvedených primerů, navrhovala jste si je sama? Podle jakého programu?
6. Kap. 4.3 Purifikace DNA z PCR reakce, str. 33
Otázka: Ověřovala jste si purifikovanou DNA než jste ji použila na sekvenování, a vyloučila tak možnost, že se DNA tzv. „ztratila“ během přečištění?
7. Kap. 5.3 Amplifikace rpS3 genu, str. 37, tab. 8, obr. 11: Na elektroforetickém snímku, obr. 11, str. 39 jsou zřejmé PCR produkty u sbírkového vzorku 4 (IX - reakce 11, 12). V textu na str. 37 a v tab. 8 je ale tento vzorek uveden jako negativní.
8. Kap. 5.5 Optimální podmínky a primery pro detekci fytoplazem, str. 41, tab. 10: pro ribozomální skupinu X-B jsou uvedeny jako optimální dvojice primerů rpS3_Fc0+R1 a rpS3_F1+R1, přestože v textu na str. 37 a v tab. 8 je tento vzorek uveden jako negativní.
9. Kap. 5.6 Detekce fytoplazem v přírodních vzorcích
U uvedených přírodních vzorků byly výsledky detekce fytoplazem podle očekávání horší než u izolátů získaných z indikátorových rostlin.
Otázka: Ověřovala jste si ještě jiným způsobem přítomnost fytoplazem v těchto vzorcích, např. pomocí publikovaných univerzálních primerů amplifikujících gen 16S?


10. Kap. 5.7 Fylogenetická analýza, str. 43, věta: „Z fylogenetické analýzy vyplývá, že nejvhodnějším genem pro zařazení do skupin je gen rpS3“.
Dodatek: Na základě nejnovějších zjištění (Lee a kol. 2010. Phylogenetic analysis and delineation of phytoplasmas based on secY gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60(12):2887-97) se ukazuje, že tímto genem je secY, který je variabilnější než gen 16S rRNA a je vhodnějším genetickým markerem pro jemnější diferenciaci úzce příbuzných fytoplazmových kmenů.
Poznámka: Důvodem, proč se závěr BP liší od této publikace, je zřejmě malý počet studovaných fytoplazmových kmenů (v publikaci uvádí analýzy z 80 a 83 fytoplazmových kmenů).
11. Kap. 8 Seznam použité literatury
Poznámka: Názvy časopisů se píše s velkými počátečními písmeny (kromě předložek), autoři článků se v seznamu uvádějí všichni. V seznamu chybí citace Hull, 2009 (str. 12, 18) a Gal, 1996 (str. 24) uvedené v textu. Naopak jsem nenašla v textu odkaz na citaci Boss, 1999 a Walkey, 1991.

Vzhledem k obtížnosti tématu a rozsahu provedené práce hodnotím práci klasifikačním stupněm

- výborný -

a doporučuji ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, dne 3.5. 2011


Ing. Jaroslava Příbylová, Ph.D.