



## Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta



Hodnocení diplomové práce - oponent

**Studijní program:** *N01 Zemědělské inženýrství*

**Studijní obor:** *Rostlinné biotechnologie*

**Akademický rok:** *2011/12*

**Název práce:** *Molekulární a biochemické charakteristiky genotypů modifikovaných rostlin ječmene*

**Student:** *Be. Lucie Kocbová*

**Katedra:** *rostlinné výroby a agroekologie*

**Vedoucí práce:** *RNDr. Slavomír Rgloušek, CSc.*

**Oponent:** *Doc. RNDr. Jindřich Brůha, CSc.*

**Pracoviště oponenta:** *katedra genetiky Přírodovědecké f. JU, c. Budějovice*

	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 fondy*

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

Navrhovaná výsledná klasifikace práce (slovně):

*dobře*

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

Datum

*11.5.2012*

Podpis oponenta

*J. Brůha*

**Posudek oponenta na diplomovou práci studentky Zemědělské fakulty JU v Českých Budějovicích Bc. Lucie Kockové „Molekulární a biochemické charakteristiky geneticky modifikovaných rostlin ječmene“**

Předložená diplomová práce je zpracována na padesátipěti číslovaných stranách, přičemž literárnímu přehledu je věnováno 16 stran, metodice 12 stran, získaným výsledkům a jejich diskuzi pak 25 stran. Jejím cílem bylo s využitím molekulárně biologických, biochemických a histochemických metod ověřit přítomnost a expresi sekvencí selektovatelných a reportérových transgenů *bar* a *uidA* (*gus*) v geneticky modifikovaných rostlinách ječmene, vyhodnotit a z genetického hlediska interpretovat získané výsledky.

Toto bezesporu zajímavé a aktuální téma nabízí samo o sobě řadu možností, jak k jeho řešení přistoupit. Výhodou bylo v daném případě získání dostatečně kvalitního popisu genetické události (užitého vektoru, způsobu transformace, vedení potomstev apod.) z pracoviště UP Olomouc, které poskytlo semenný materiál T3 generace a uvedenou průvodní dokumentaci, jakož i vybavenost a zkušenosti školícího pracoviště Zdravotně sociální fakulty JU. Záleželo tedy zejména na invenci a přístupu studentky, do jaké hloubky se bude problematice věnovat. Budiž ke cti Bc. Kockové, že se v literárním přehledu nevěnovala všeobecně uváděným faktům jako popisům metod a bakteriálních vektorů pro transformace rostlin a soustředila spíše svoji pozornost na geneticky modifikované plodiny, zejména ječmen a použité modelové transgeny. Na druhé straně jen málo využila stávajících možností přístupu k odborné literatuře a poznatky převzala povětšinou ze starších zdrojů (např. monografie Ondřej a Drobník, 2002), což zejména v oblasti velmi rychle se rozvíjejících genetických modifikací a jejich uplatnění v nejrůznějších oborech je na škodu aktuálnosti díla. V tomto ohledu je proto pro mne určitým zklamáním kapitola 2.3. Genetické modifikace ječmene, kde autorka povětšinou vycházela z české souhrnné práce Pospíšilová a Frébort (2010). Proto mám na autorku diplomové práce následující dotaz: Můžete uvést příklady některých dalších modifikací ječmene, které již byly vyvinuty a jsou ve stadiu ověřování (např. na úrovni polních pokusů), případně je o nich uvažováno? Dále mám pocit, že autorce není zcela jasné, zda a případně jaký je rozdíl mezi bialaphosem, fosfintricinem a glufosinátem?


Metodická část práce je popsána poměrně srozumitelně a dostatečně podrobně. V dané souvislosti mám dotaz ke způsobu značení rostlin generací T<sub>3</sub> a T<sub>4</sub>. Odpovídá vždy použité označení původu rostliny stejné linii, tj. byla např. z rostliny č. 1 T<sub>3</sub> generace odvozena rostlina T<sub>4</sub> generace s tímtéž označením a proč způsob značení není uveden v metodice? Dále jen poznámka pro případné další práce obdobného typu. Je vhodné vždy vysvětlit k jakému účelu

byla určitá metoda použita, aby i nezasvěcený čtenář znal od samého počátku souvislosti a návaznosti kroků.

Rozsah experimentální činnosti byl bezpochyby negativně ovlivněn dlouhodobou zahraniční stáží autorky. Řada analýz a průkazů tak byla uskutečněna v „minimální variantě“ a bezpochyby by zasloužila více opakování pro jednoznačnost výsledků i hlubší znalost dynamiky exprese transgenů v průběhu vývoje rostlin a v jejich jednotlivých částech. Díky tomu Bc. Lucie Kocková nevytěžila z tohoto zajímavého tématu více. Četné výsledky jsou proto spíše komentářem zjištění než jednoznačným důkazem a podkladem pro kvalitní diskusi, viz zejména histochemické detekce GUS a hybridizace metodou „dot-blot“, kde nebyly získány kvůli bližší nespecifikované metodické chybě výsledky vůbec žádné. Zklamáním pro mě byly i výsledky RT-PCR, kde se autorce nepodařilo zbavit se v izolované RNA kontaminující DNA, takže výsledky po amplifikaci cDNA nejsou signifikantní kvůli pozitivním signálům po amplifikaci vzorků RNA, u nichž nebyla reverzní transkripce provedena. V obr. 8 a v popisu pod ním (str. 39) jsou špatně uvedeny velikosti, místo 300-100 kb má být 300-100 bp. Tabulky i obrázky by si zasloužily bohatší popis. „Úspornost“ sdělení je patrná i z diskuse a závěrů diplomové práce, které tak spadají do nepřilíš zajímavého průměru. Na druhé straně revizi práce byla bezpochyby věnována větší pozornost, patrně i díky velké náročnosti školitele se v práci vyskytuje jen málo formálních nedostatků a věcných nepřesností. Přesto by se však autorka měla vyvarovat chybných tvrzení jako na str. 29 v tab. 3, kde v prvním sloupci je uvedeno *BAR* gen (rezistentní k herbicidům). Z jakého důvodu je v tabulce použito odlišné označení (velkými písmeny) genů *bar* a *gus*? V čem spočívala optimalizace PCR, když metodiky byly převzaty z UP Olomouc? Slabší práce s literaturou se projevuje v některých částech práce chudší slovní zásobou, zejména v případech odborného označení (často je např. užíváno nic neříkajícího termínu „vizualizace“) a komplikovaností sdělení.

**Závěr:** Diplomová práce Bc. Lucie Kockové splňuje i přes výše uvedené výhrady potřebné náležitosti vyžadované studijním řádem Zemědělské fakulty JU, a proto ji doporučuji k obhajobě. Práci hodnotím jako přínosnou a doporučuji ji klasifikovat známkou dobře.

V Českých Budějovicích, dne 17. května 2012

  
Doc. RNDr. Jindřich Břiza, CSc.  
katedra genetiky PřF JU  
Branišovská 31  
370 05 České Budějovice