



## Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta

Hodnocení diplomové práce - oponent

<b>Studijní program:</b>	N4101 Zemědělské inženýrství
<b>Studijní obor:</b>	Rostlinné biotechnologie
<b>Akademický rok:</b>	2013/2014
<b>Název práce:</b>	Detekce fytoplazem pomocí DNA-mikročipu
<b>Student:</b>	Bc. Jaroslava Marková
<b>Katedra:</b>	Katedra rostlinné výroby a agroekologie
<b>Vedoucí práce:</b>	Mgr. Ondřej Lenz, Ph.D.
<b>Oponent:</b>	Ing. Jaroslava Příbylová, Ph.D.
<b>Pracoviště oponenta:</b>	Ústav molekulární biologie rostlin, BC AVČR, v.v.i.

	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

Podpis oponenta

9.5.2014

*Jaroslava Příbylová*

## Příloha

Konkrétní připomínky a otázky k obhajobě diplomové práce

Detekce fytoplazem pomocí DNA-mikročipu.

Autor: Bc. Jaroslava Marková

1. Pomocí ribozomálního proteinového (*rp*) operonu zahrnujícího geny *rps3*, *rpl22* a *rp19* lze rozlišovat i podskupiny fytoplazem. Tyto geny se používají pro detailnější diferenciaci fytoplazmových podskupin. Podařilo se Vám určit i podskupinu v sebraných vzorcích a v izolátech DNA z hmyzích vektorů? Podle publikace Lee a kol. 2004: 'Candidatus Phytoplasma asteris', a novel phytoplasma taxon associated with aster yellows and related diseases. *Int. J. Syst. Evol. Microb.* 54, 1037-1048, je možno rozlišovat podskupiny v rámci aster yellows skupiny fytoplazem (16SrI).
2. Tabulka 8 (str. 40): u vzorků č. 11 (16SrXI) a 13 (16SrXII) pocházejících ze sbírky izolátů prof. Bertaccini uvádíte na základě porovnání Vašich sekvencí s databází NCBI skupiny I a III. Jak si vysvětlujete tuto nesrovnalost?
3. Tabulka 8 (str. 40): zde uvádíte přehled sekvenčních reakcí s pozitivním výsledkem u vzorků prof. Bertaccini a ze sebraných vzorků pouze u jetele lučního a řepky olejné, žádný týkající se hmyzích vektorů. Na str. 44, týkající se výsledků z mikročipů uvádíte, že se úspěšně podařilo hybridizovat navíc ještě vzorky z třapatky nachové a jabloně domácí. Oba vzorky Vám, jak uvádíte v tab. 13, poskytla Dr. Fránová, která přítomnost fytoplazem v těchto vzorcích již dříve publikovala. Ve vzorku třapatky nachové byla detekována skupina 16SrIII-B (Fránová a kol. 2013, *Eur. J. Plant Pathol.* 136:7-12) a ve vzorku jabloně domácí skupina 16SrX-A (Fránová a kol. 2013, *Eur. J. Plant Pathol.* 136:675-688). Vy uvádíte, že vzorek jabloně hybridizoval k próbám ze skupiny I a vzorek třapatky nachové k próbám ze skupiny I a III. Jak si tyto rozdíly vysvětlujete?

Ačkoliv žádný vzorek týkající se hmyzích vektorů nebyl pozitivní v PCR (nebyla získána sekvence), byl získán pozitivní výsledek pomocí mikročipu pouze u vzorku 202/6 ze skupiny XII, třebaže všechny izoláty DNA hmyzu ze sbírky prof. Navrátila byly dříve otestovány klasickým PCR s publikovanými primery pro gen 16Sr jako pozitivní. Přesto v nich nebyly detekovány fytoplazmy ani pomocí Vašeho PCR, ani pomocí mikročipů. Doporučovala bych porovnání Vaší metody s metodou klasického PCR (nested) amplifikujícím gen 16Sr.

I přes výše uvedené připomínky považuji diplomovou práci za odborně náročnou a experimentálně velice rozsáhlou, jelikož bylo celkem analyzováno 60 různých vzorků pomocí různých kombinací 15 primerů v 445 PCR reakcích a dále pak pomocí DNA- mikročipů.

Proto doporučuji diplomovou práci k obhajobě a po zodpovězení připomínek navrhuji klasifikaci stupněm - **výborně** - .

V Českých Budějovicích, 9.5. 2014



Ing. Jaroslava Příbylová, Ph.D.  
ÚMBR, BC AVČR