



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Biotechnologické centrum

Studentská 13, 370 05 České Budějovice

prof. Ing. Vladislav Čurn, PhD.

☎ *420-387772588

☎ *420-387772588

e-mail: vcurn@seznam.cz

Oponentský posudek na magisterskou práci
Zoltána Füssy

**„Analýza exprese vybraných regulačních faktorů chmelu
v návaznosti na projevy viroidní patogeneze“**

Předložená magisterská diplomová práce řeší velmi specifickou problematiku analýzy exprese chmelových transkripčních faktorů po cílené infekci viroidy. Práce je po formální i věcné stránce velmi kvalitně zpracovaná. Členění práce pak odpovídá standardu kladenému na diplomovou práci.

Úvodní kapitola podává zasvěcený přehled o studované problematice. Autor podává stručný přehled o modelové rostlině a dále pak detailně rozvádí problematiku regulačních faktorů, popisuje známe viroidní patogeny chmele a mechanismy jejich patogeneze. V závěru pak tyto pasáže propojuje s dosaženými výsledky laboratoře OMG a poněkud „skrytě“ uvádí hypotézy, které jej vedly ke zpracování diplomové práce.

Kapitola *Cíl práce* pak jasně uvádí cíle diplomové práce a metodický koncept použitý k dosažení cílů práce.

Kapitola *Materiál a metody* je zpracována velmi pečlivě a místy až velmi podrobně a podává dokonalý přehled o metodách a postupech, které byly v autorem v průběhu řešení použity. Dojem z této kapitoly mám nicméně mírně chaotický, možná, že by prospělo uvádět jednotlivé metody a postupy v logických návaznostech.

Výsledkům a diskusi je pak věnována velká pozornost, autor podrobně uvádí a dokumentuje dosažené výsledky, připomínky jsou uvedeny níže. Výsledky jsou velmi zajímavé a jejich prezentace i poukazuje na zvládnutí celé řady náročných

metod a postupů autorem diplomové práce. Diskuse je rovněž pečlivě a kvalitně zpracovaná, v závěru pak autor ukazuje další možnosti směřování této práce.

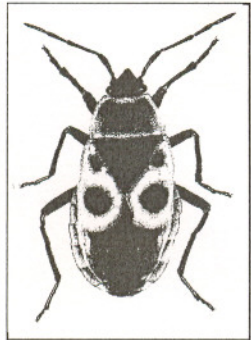
Kapitola Závěr pak přehlednou formou shrnuje dosažené výsledky získané v průběhu řešení diplomové práce.

Poznámky a připomínky:

- do textu práce se vloudilo několik překlepů, slangových výrazů, ne zcela vhodných větných konstrukcí
- konstatování, že chmel je příbuzný *Cannabaceae* není úplně v pořádku, chmel patří do této čeledi
- namísto *kultivaru*, *cv.* by jako vhodnější termín bylo lepší používat *odrůda*
- proč byly rostliny chmele pěstovány při 16-hodinové fotoperiodě?; má délka dne vliv na průběh inokulace a patogeneze?
- v úvodu se uvádí, že prenylované flavonoidy jsou vznikají z fenyylpropanoidů syntetizovaných v lupulinových žlázkách; kde vznikají tyto prenylované flavonoidy – také v lupulinových žlázkách?; a proč pro stanovení obsahu sekundárních metabolitů byly používány listy a řapíky?
- proč byl používán HSVd izolovaný z révy vinné, lze při inokulaci izoláty získanými z chmele očekávat stejné výsledky?
- jaký byl rozsah experimentů a z jakého počtu rostlin/listů byly prováděny analýzy?; proč autor uvádí, že výsledky analýzy sekundárních metabolitů není možné kvantifikovat a proč nebylo u těchto analýz provedeno alespoň základní statistické vyhodnocení?
- v diskusi jsou na str. 53 porovnávány výsledky dosažené u dvou odrůd chmele – Admiral a Osvaldův klon 72; ve výsledcích autor uvádí pouze data pro Admiral, je možné prezentovat kompletní výsledky a jejich porovnání?

Získané výsledky jsou zajímavě a metodicky velmi cenné, autor předložené diplomové práce prokázal schopnost samostatné vědecké práce a interpretace získaných dat, zvládl náročné techniky a rovněž i jeho schopnost prezentovat a diskutovat dosažené výsledky je kvalitní. Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji klasifikačním stupněm „výborně“.

prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Biotechnologické centrum ZF



Dr Michal Žurovec
Biologické centrum AV ČR
Entomologický ústav
Braníšovská 31
370 05 České Budějovice
Tel: 38777 5283
E-mail: zurovec@entu.cas.cz

Č. Budějovice, 6. června 2008

Posudek na magisterskou práci Zoltána Füssy: „Analýza vybraných regulačních faktorů chmele v návaznosti na projevy viroidní patogeneze“.

Tato problematika je v České republice velmi atraktivní, neboť zde existuje dlouhou tradici v pěstování chmele, jež je jednou z mála hospodářských plodin původních pro tento region. Práce se zabývá výzkumem mechanismu působení viroidů, kdy student vytvořil rekombinantní molekulu plazmidu pUC19 nesoucí viroidový fragment, kterým infikoval rostlinu a zjistil, že vzniklé rostliny vykazují fenotypické projevy napadení příslušným viroidem. Přítomnost infekce byla potvrzena pomocí northern blotu. V dalších částech práce se student zabývá sledováním rozdílů mezi neinfikovaným chmelem a chmelem infikovaným rekombinantním viroidem.

Po formální stránce je práce příliš rozvláčná odstavce velmi často nesledují jedinou myšlenku a naopak souvislosti mezi popsány jevy je nutno pracně hledat. Práci by významně obohatil seznam zkratk, jež by usnadnil orientaci ve zkratkami nabitým textu. Na straně 8 autor na rozdíl od zbytku práce zvolil dvousloupcové uspořádání textu.

Po obsahové stránce se jedná o magisterskou práci svědčící o zvládnutí značného množství molekulárních metod, vlastní zpracování však student dosti podcenil. Práce navazuje na výzkum laboratoře Dr. Matouška, který však není podle mého názoru v úvodu adekvátně shrnut a práci provází spousta nejasností a logických skoků – takže při prvním čtení přecházíme od vztahu jakýchsi transformantů HlMyb3, k nejasnému způsobu získání klonovaných transkripčních faktorů HlbZIP2, přes použití rekombinantních viroidů a použití metody TGGE pro hledání sekvenční variability v jednom (náhodně zvoleném?) z transkripčních faktorů apod. Po pracném hledání je ale možné se souvislosti částečně dopátrat. Bohužel nepracuji v oboru rostlinné virologie, takže je možné, že v daném oboru jsou mé nejasnosti ve skutečnosti obecně známé věci.

K autorovi mám několik dotazů a připomínek:

- 1) V cílech práce hovoří autor o analýze metabolomů. Ve skutečnosti autor neprováděl komplexní výzkum základních metabolických drah, ale pouze několika sekundárních metabolitů uvedených na straně 46.
- 2) Zajímalo by mne, zda autor může doložit, že rekombinantní viroidy se chovají na rostlinách stejně jako přírodní.
- 3) Na obrázku 8 je viroidní infekce přírodním nebo rekombinantním viroidem?
- 4) Co znamená pravá polovina obrázku 8 (jednotlivá čísla, počty mikrolitrů, jednotlivé jamky na Northern blotu atd). Co znamenají označení 41 R+B na obrázku 8 vlevo dole.
- 5) Co podle autorova názoru způsobilo obrovský rozptyl hodnot na obrázku na straně 46?
- 6) Obr. 10, str. 48, jaká je reprodukcibilita těchto výsledků a proč obsahuje vzorek z listů tak velké pozadí?
- 7) Obr. 11 Jak autor vysvětluje tak velký rozdíl v kvantifikaci mRNA mezi semikvantitativní RT-PCR a Real Time RT PCR?
- 8) Autor vyvodil z detekovaných rozdílů sekvencí HlbZIP2, že došlo k expresi více genů téže rodiny, metoda kterou autor použil však není adekvátní pro odpověď na otázku počtu genů. Jaké je procento výskytu jednotlivých variant? Jak autor vyloučil polymorfismus, chyby v PCR atd?
- 9) Co znamená signalizace stresu „a/“ v závěru na straně 57 – jedná se o totéž jako „A“ na straně 56?

Celkově práce splňuje požadavky na magisterské práce a doporučuji ji k obhajobě.