

Oponentský posudek bakalářské práce

„Detekce a identifikace fytoplazem ve šlechtitelském materiálu hrušní.“

Autor: Helena Čermáková 2009
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

Školitel: Dr. Ing. Jana Fránová
Biologické centrum AV ČR
Ústav molekulární biologie rostlin
Oddělení rostlinné virologie

Oponent: Ing. Jaroslava Příbylová, Ph.D.
Biologické centrum AV ČR
Ústav molekulární biologie rostlin
Oddělení rostlinné virologie

Bakalářská práce slečny Heleny Čermákové je zaměřena na detekci a identifikaci fytoplazem v hrušních, které u nás tradičně patří k hojně pěstovaným ovocným dřevinám. Fytoplazmové onemocnění chřadnutí hrušní (pear decline) je rozšířeno i v našich produkčních sadech a je zařazeno do seznamu karanténních činitelů České republiky. Proto se výzkum a vývoj komplexních postupů diagnostiky hospodářsky významných a karanténních fytopatogenních organismů v systému certifikace ovocných dřevin považuje za zásadní.

Bakalářská práce obsahuje celkem 40 stran textu, který je členěn do 7 hlavních kapitol, přehledně koncipovaných.

Literární přehled je velmi rozsáhlou částí práce, obsahuje celkem 54 citací, čímž oceňuji zodpovědný přístup studentky k prostudování teorie zadané problematiky.

Metodická část práce celkem přehledně uvádí použité metody a materiál. Ze vzorků poměrně velkého souboru příznakových stromů hrušní byla extrahována DNA standardní chloroform-fenolovou metodou. Fytoplazmová DNA byla detekována pomocí direkt, nested a double nested PCR s použitím několika dvojic univerzálních primerů světově používaných. Následná identifikace získaných PCR produktů byla provedena pomocí restriktivního štěpení vybranými enzymy.

V části Výsledky a diskuze v rozsahu 3 stran textu spolu s 9 stranami příloh jsou uvedeny autorkou dosažené výsledky dokladované převážně formou fotografií. Autorce se podařilo splnit cíle vytýčené v bakalářské práci. Přínosem práce bylo nejen zjištění infekce hrušní karanténním organismem fytoplazmou chřadnutí hrušní (pear decline), ale i fytoplazmy proliferace jabloně (apple proliferation), do té doby na hrušních nezjištěné.

Bakalářská práce je celkově na dobré jazykové úrovni, v textu se objevují pouze drobné nepřesnosti, či překlepy, popř. chybné uspořádání textu.

Připomínky:

2.2. Metody studia fytoplazem

Str. 9 – upravit větu na: „... s analýzou délkového polymorfismu restriktivních fragmentů (RFLP). (Dále v textu již používat pouze zkratku).

2.6. Ochrana proti šíření fytoplazmových onemocnění

Str. 13 – věta: „...může vést i ke vzniku rezistentních bakteriálních kmenů.“ Z kterého zdroje jste čerpala informace? Chybí citace.

3.2. Izolace DNA

Podmínky pro centrifugaci by měly být uváděny spíše v rcf než v rpm

3.3. Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Str. 17 chybí uvedení koncentrace primerů používaných v reakci

Str. 18 F2n – chybně uvedená citace, správně je Gundersen a kol., 1996

Str. 19 – větu v prvním odstavci změnit na: „... reakce bez templátové DNA byly použity jako negativní kontroly. (Stejně i na str. 21).

3.4. Analýza RFLP

Str. 19 – u restričních endonukleáz uvádět výrobce, různé firmy uvádějí často stejné enzymy pod odlišným názvem

Str. 19 – APS je amonium persulfát

4. Výsledky a diskuze

Str. 22 – poslední odstavec, upravit větu na: „...k napadení padlím jabloňovým (*Podosphaera leucotricha*).

6. Seznam použité literatury

K této části práce mám výhrady, co se týká uvedení nepřesnosti názvů prací (mnohdy vynechání celých slovních spojení), záměny slov nebo anglických zkomolenin, změn názvů publikací, jmen autorů, a nejednotnosti v systému citací. Za závažné považuji, že u citace Hogenhout a kol. 2008 chybí celý název článku a u citace Lee a kol. 1998 není uvedeno jméno jednoho z autorů. V seznamu postrádám některé citace (výše uvedeno), se kterými přímo souvisí praktická část práce studentky.

Otázky k obhajobě:

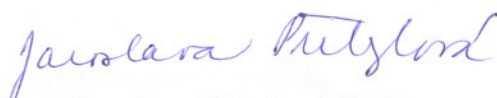
1. Ad 3.1. Materiál, str. 14, 21 23 – uvádíte vzorky ze 36 hrušní různých odrůd, v tabulce 1 je uvedeno pouze 28 vzorků. Čím vznikla tato nesrovnalost?
2. Ad 4. Výsledky a diskuze, str. 22 – první odstavec: chybí citace, odkud jste čerpala informace? (V klasifikačním schématu fytoplazem založeným na RFLP analýze dle Lee a kol., 1998 štěpení pomocí enzymů *TruI* a *SspI* není).
3. Ad 4. Výsledky a diskuze, str. 23 – správně uvádíte, že zahraniční autoři uvádějí pro detekci primery specifické pro fytoplazmu chřadnutí hrušní. Vy jste pomocí univerzálních primerů pro detekci fytoplazem zjistila tuto fytoplazmu celkem v 15 stromech. Zkoušela jste alespoň u některých z nich ověřit své výsledky také pomocí některých z těchto specifických primerů a s jakým výsledkem?

Přes uvedené připomínky hodnotím práci klasifikačním stupněm

- výborný -

a doporučuji ji k obhajobě.

V Český Budějovicích, dne 26. 5. 2009


Ing. Jaroslava Příbylová, Ph.D.