



Ing. Tereza Zichová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507/73, 161 06 Praha 6 - Ruzyně
email: zichova@vurv.cz

Oponentský posudek bakalářské diplomové práce

Autor práce: **Irena Hladová**

Název práce: **Hledání SNP pro genetické mapování resistance obaleče jablečného, *Cydia pomonella*, vůči viru granulózy (CpGV)**

Práce Ireny Hladové je zaměřena na hledání jednonukleotidových polymorfismů (SNP) na pohlavním chromosomu Z obaleče jablečného u dvou odlišných linií (rezistentní a citlivé k mexickému izolátu CpGV). Nejprve jsou SNP nalezeny pomocí sekvenování a následně autorka práce testuje dvě molekulární metody detekce u vybraných SNP.

V úvodu práce je na 12 stranách zpracována literární rešerše odkazující se na celou řadu zahraničních i českých literárních pramenů. Tato část má široký záběr a je přehledně a pečlivě zpracována. Pouze od strany 9 do strany 12 došlo patrně k rozhození členění kapitol a podkapitol. V úvodu mi také chybí představení situace v České republice (rok registrace přípravků, jejich názvy, první výskyt resistance, apod.)

Cíle práce jsou jasně definovány a rozděleny do čtyř dílčích cílů.

Kapitola Materiál a metody přehledně popisuje jednotlivé kroky vedoucí od izolace genomové DNA z jedinců obaleče jablečného až k získání vybraných úseků DNA chromosomu Z studovaných dalšími molekulárními metodami. Kapitola je doplněna přehlednými tabulkami, ve kterých jsou uvedeny bližší informace o studovaných fragmentech genů, použitých párech primerů i restričních endonukleázách. Jediným shledaným nedostatkem jsou 2 odkazy na kapitoly které v práci nejsou (kap. 1.2.5., kap. 3.3.2).

Výsledky práce přinesly nové poznatky o výskytu SNP a insercí/deleci v intronových oblastech 11 fragmentů genů chromosomu Z u dvou odlišných linií obaleče jablečného. Díky těmto zjištěným sekvencím byly dále fragmenty genů obou linií obaleče zkoumány za pomoci dvou molekulárních metod RFLP-PCR a DGGE. Testování obou metod je vhodně doplněno elektroforeogramy, které jsou dobře označeny a popsány v legendě.

V diskusi jsou představeny známé typy resistance obaleče jablečného k chemickým insekticidům a diskutována problematika resistance k CpGV. Dále jsou uvedeny metody studia populací obaleče jablečného za pomoci mikrosatelitů a mtDNA a možné vlivy na genetickou variabilitu tohoto škůdce. Tato část diskuse by mohla být součástí úvodu práce, avšak lze ji chápat jako upřesňující úvod pro následující text, který nás seznámí s výběrem metody pro studium resistance obaleče k CpGV. Dědičnost resistance je vázaná na chromosom Z a právě proto bylo studium zaměřeno na geny tohoto chromosomu. Autorka v závěru diskuse uvádí, že získané výsledky budou dále použity v navazující diplomové práci, kde bude provedeno genetické mapování resistance za pomoci křížení obou studovaných linií obaleče jablečného následované zpětným křížením s rezistentní samicí.

Připomínky a dotazy:

úvod

- str. 5 Prosím o vysvětlení věty „Housenky vylíhly z vajíček zhruba po týdnu vyhledají plod a pronikají do něj.“ Není zcela jasné zda inkubace vajíček trvá přibližně týden, nebo zda housenky po týdnu od vylíhnutí naleznou vhodný plod.
- str. 9 Uvádíte, že u bakteriálního postřiku *Bacillus thuringiensis* (Bt) je účinnost proti housenkám obaleče jablečného značně snížena krátkým životem škůdce. Zde bych chtěla

uvést, že se nejedná o krátký život škůdce, ale o krátkou dobu expozice přípravku na bázi Bt, protože se housenky brzy zavrtávají do plodu a vyvíjejí se skrytě.

- str. 9 „entomopatogenní hlístice, které mohou být, kvůli svým nárokům na vlhkost a omezené schopnosti disperze, použity jen pro boj proti listovým škůdcům“ Zde bych doporučila správnější výraz „entomoparazitické hlístice“ a jejich využití je zacíleno proti stádiím hmyzu vyvíjejícím se v půdě. Proti kterému vývojovému stádiu obaleče jablečného a v jaké roční době lze entomoparazitické hlístice využít?
- str. 10 „Patří do čeledi Baculoviridae, pro kterou je charakteristický kulovitý tvar“. Tato charakteristika odpovídá pouze rodu Betabaculovirus.
- str. 10 chybí druhý typ částice, který bakuloviry využívají při svém šíření po hostitelských tkáních, prosím o vysvětlení cyklu na příkladu CpGV.

Výsledky

- Zajímalo by mě, zda byly na sekvenování různých částí genomu zaslány vzorky DNA jednoho jedince CpRR1 a jednoho Krym-61, nebo zda je 11 intronových sekvencí výsledkem opakovaného sekvenování různých jedinců obou linií.
- Fragment genu thioredoxin (750 bp) u linie Krym-61 byl dle obrázku 5 štěpen restrikční endonukleázou *BspHI* pouze částečně. Viditelné jsou produkty 750 bp, 530 bp a 220 bp. V textu se o tom nezmiňujete, čím si toto částečné štěpení vysvětlujete? Bylo štěpení zkoušeno i u fragmentů genu thioredoxin z jiných jedinců?

Drobné formální připomínky:

I v sebelepší práci se vždy najdou nějaké překlepy a omyly, některé z nich uvádím níže:

- jazyková nejednotnost: u následujících názvů by měla být vybrána jen jedna varianta: chromosom/chromozom; resistance/rezistence; sekvenování/sekvenování, ml/mL
- str. 3 a 10 „Asser-Kaiser“ správně „Kaiser“
- str. 11, 29 místo „L₅₀“ má být uvedeno „LC₅₀“
- str. 11, 29 „diskriminující koncentrace“ za vhodnější překlad slova „discriminative“ do češtiny považuji výraz „diskriminační“.
- str. 14 krymský poloostrov se nachází na Ukrajině
- str.14 „Kódující sekvence (CDS) ... byly převzaty z práci Sýkorová (2011) a Nguyen a kol. (2012) (Tab. I).“ Nemá být první z citací „Dalíková, nepublikováno“ jak je uvedeno v Tab I?
- str. 20 „V této práci byly použity dvě linie ...rezistentní linie CpRR1 vykazující 100x sníženou citlivost k CpGV (Asser-Kaiser a kol., 2007)“. údaj 100x je v citované práci i u vás v úvodu (str.11) správně uveden u linie CpR
- str. 23 místo „Nollau a kol., 1997“ má být „Nollau a Wagener, 1997“

Závěr

Autorka splnila zadané cíle práce, seznámila se s řadou významných molekulárních metod, vytvořila si metodické postupy a získala první výsledky, které budou dále použity a rozšířeny v diplomové práci. Význam a přínos této práce je veliký také proto, že se jedná o velmi aktuální téma. Práce je velmi dobře a srozumitelně psaná a nezjistila jsem v ní žádné závažnější odborné nedostatky.

Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji její hodnocení klasifikačním stupněm výborně.

V Praze, dne 17.1. 2013



Ing. Tereza Zichová, Ph.D.