

Posudek oponenta na bakalářskou práci studenta Přírodovědecké fakulty JU
Jaroslava Ondruše
„Funkční analýza overexprese genu pro transkripční faktor typu Myb z rajčete,
potenciálního targetu infekce viroidem PSTVd“

Předložená bakalářská práce se zabývá aktuálním a velmi zajímavým tématem vyhledávání primárních cílových struktur hostitelské rostliny po jejím napadení molekulárními patogeny - viroidy. Na základě literárních poznatků i srovnávacích genomových analýz se pozornost autora soustředila na vybrané geny pro transkripční faktory Trifoliolate (*Tf*), původem z rajčete a mutant *Lof1* z huseníčku, jakož i možnosti vzájemné kompenzace jejich účinků. I přes jasnou koncepci řešení předpokládala realizace práce zvládnutí většího počtu, na bakalářskou práci (BP) poměrně náročných technik, jako získání stabilních transformantů huseníčku *Arabidopsis thaliana* a dvou druhů tabáku (*Nicotiana tabacum* a *N. benthamiana*), analýzu štěpných poměrů transgenů v T2 generacích, srovnání fenotypových projevů genů *Tf*, *Lof1* a infekce viroidem PSTVd, molekulární průkaz přítomnosti inzertů v rostlinách, studium dočasné exprese a možnosti komplementace symptomů po transformacích směsí vektorů. Mimo to práce vyžadovala i průběžné studium aktuální literatury, jež je převážně v angličtině. Budiž ke cti autora, že se těchto nelehkých úkolů zdárně zhostil a v časově omezeném období uskutečnil potřebné pokusy, úspěšně je vyhodnotil a interpretoval. Výsledkem je poměrně zdařilé 49stránkové dílo, které by v řadě ohledů splňovalo nároky kladené na pokročilejší magisterskou práci.

V literárním přehledu se J. Ondruš stručnou, avšak výstižnou formou, věnuje přiblížení tématu viroidních agens, transkripčních faktorů, jejich rolí v morfogenezi rostlin a možné interakci s patogeny, modelovým rostlinným objektům, vektorovým bakteriím *Agrobacterium tumefaciens*, problematice dočasné exprese transgenů a jejich umlčování. V závěru kapitoly pak základním metodám průkazu integrace transgenů do hostitelské DNA. Danou část považuji za zdařilou. Přestože ne vždy autor vycházel z klasických literárních zdrojů, podařilo se mu dostatečně objasnit podstatu a souvislosti s řešenou problematikou. Vhodným způsobem jsou ilustrovány např. projevy patogeneze způsobené některými viroidy, primární a sekundární struktura viroidu PSTVd a důsledky potlačení exprese genu *Lof1*. K dané části mám několik drobných připomínek. Na str. 8 v legendě k převzatému obrázku č. 5 je uveden srůst tyčinek, avšak ten se týká pouze podobrázku H, zatímco na podobrázku G jsou jiné struktury, o nichž není zmínka. O jaké se jedná? V dalším textu je použit nesprávný termín „přirůstají“ ve větě: „(huseníček) Dosahuje výšky až 30 cm, z přízemní růžice listů se tyčí hlavní stonek, ze kterého časem přirůstají postranní větve“.

Metodické části práce je věnováno 9 stran poměrně hutného a výstižného textu, který však předpokládá poměrně dobrou znalost problematiky. V této, ale i v dalších částech práce jsou totiž často používány termíny a zkratky, aniž by byly (hned či vůbec) vysvětleny, např.: „fytoméry“, „transientní“, „senescence“, „annealing“, „elongace“, „overexpres“, „surfaktant“, „MES“, „BAP“, „NAA“. Bezpochyby pod vlivem silně převládající anglosaské zdrojové literatury se poměrně často a zbytečně autor BP přiklání k anglickým či „počeštěným“ termínům, ačkoliv existují výstižné české obdoby: To je pak zdrojem nejen zbytečných gramatických chyb, ale i odborných nepřesností („Reakce probíhá v Cycleru...“; „z wild type rostlin“, „směs minerálů a vitamínů MS“, „transfer-region“, „...syntéza komplementárního řetězce probíhá v kruhu“, „kazein-tryptone“, pH = 6,8, BAP = 1,0 mg/l, apod.). V této souvislosti je na místě upozornit, že názvy enzymů jako „neomycin fosfotransferáza II“, se v češtině píší dohromady (nikoliv jako dvě slova), obdobně termíny ko-expres, post-transkripční, ko-kultivovány se již píší bez pomlčky. Snaha po stručnosti někdy vede k tomu, že neznalý čtenář může některá tvrzení chybně interpretovat. Například: „Díky nepřímé organogenezi se objevovala malá embrya, která byla skalpelem vyříznuta...“. Jedná se skutečně o embrya nebo jiné struktury? Obdobně se na str. 18 uvádí: „Tato skutečnost (pozn. chimérismus) se v důsledku projevila částí sensitivní vůči použitému antibiotiku.“ Zkoušel snad autor citlivost různých částí regenerovaných rostlin? V dalším textu pak: „...specifická antibiotika v případě selektce semen již transformovaných rostlin“. Jaké by mělo být správné znění? Za nepříliš vhodnou pro možné pokračovatele práce považuji skutečnost, že v návodech na složení roztoků jsou obecně uváděny chemikálie pouze zkratkami či chemickými vzorci.

Stěžejní části práce – výsledkům je věnováno 16 stran. Získané výsledky jsou přehledně zpracovány a považuji je za velmi hodnotné. Její součástí jsou i *in silico* srovnávací analýzy genových sekvencí. Bohužel ani tato část není zcela prosta dříve zmiňovaných prohřešků, jako zbytečné „úspornosti textu“ při popisu obrázků a postupech hodnocení. Příkladem může být např. popis hodnocení štěpných poměrů rostlin huseníčku na str. 22, který je příliš stručný na to, aby byl dostatečně srozumitelný. Jakým způsobem označuje autor jednotlivé generace transformantů (T0, T1, T2 nebo T1, T2)? Do jaké míry je tvrzení: “Tab. III uvádí tyto štěpné poměry i χ^2 kvadrát transgenních rostlin *Arabidopsis thaliana* obsahujících gen *Tf*.“ opodstatněné? Obdobně stručný popis je i v kapitole 4.6 k hodnocení transgenních potomstev *N. benthamiana*. Na str. 29 je popis obrázku č. 13 neúplný. Není jasné, proč je daná transgenní zakrslá rostlina *N. benthamiana*, jakož i rostlina kontrolní zobrazena na dvou snímcích. Na str. 32 autor zmiňuje: „Nebyly pozorovány atypické srůsty

buněk.“ Má se skutečně jednat o srůsty buněk? Proč je většina vysvětlivek v přehledu použitých zkratk v práci (str. 49), včetně běžných chemikálií, uvedena v angličtině? Na druhé straně je třeba zdůraznit, že i přes výše uvedené připomínky se jedná o práci kvalitní a velmi přínosnou. Získané výsledky jsou odpovídajícím způsobem vyhodnoceny a kriticky diskutovány. Po doplnění může být daná práce bezesporu předmětem článku v odborném časopise.

Bakalářská práce Jaroslava Ondruše bezpochyby splnila svůj cíl a proto ji doporučuji k ohajobě. Navrhuji ji klasifikovat známkou *velmi dobře*.

V Českých Budějovicích, dne 21.5.2014



RNDr. Slavomír Rakouský, CSc.
Zdravotně sociální fakulta JU
a katedra genetiky Přírodovědecké fakulty
České Budějovice