

**Oponentský posudek
bakalářské práce**

Molekulární charakteristika fytoplazmy infikující zahradní petrklič (*Primula acaulis*)

Autor: Kateřina Podrábská
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 autorky Kateřiny Podrábské je zaměřena na identifikaci fytoplazmy v petrkličí zahradním (*Primula acaulis*) pomocí molekulárních metod a detailní genetickou charakterizaci studované fytoplazmy. Jedná se o první vzorek prvosenky s příznaky fytoplazmového onemocnění nalezený na území ČR. Zatím byly na tomto hostiteli nalezeny pouze dva druhy fytoplazem izolované v Německu a Velké Británii.

Bakalářská práce obsahuje celkem 59 stran textu, který je členěn do osmi hlavních kapitol.

Literární přehled je zřejmě nejrozsáhlejší částí práce, obsahuje celkem 127 citací, čímž oceňuji snahu studentky o získání teoretických znalostí, i když ne všechny citované práce se týkají zadané problematiky.

Metodická část práce uvádí použité metody a materiál. Přestože studentka pracovala již s vyzolovanou DNA, další prováděné pokusy byly poměrně rozsáhlé. Práce se týkala amplifikace ribozomálního operonu 16S-23S, genů *rplO* – *map*, *rps19* – *rps3*, *cpn60*, *tuf*, *pyrH* - *frr*, *hflB*, a to pomocí *direct* i *nested PCR*, RFLP analýzy, a detailní analýzy sekvenčních dat. Přesto jsou v této části jisté nedostatky, chybí zde např. složení použitých pufřů a PCR mixů, dále koncentrace DNA použitá do PCR reakcí, koncentrace primerů, vysvětlení některých zkratk (BF modř), BSA, nedostatky v uvádění ředění PCR produktů. Jsou zde chybně používány termíny *direct* a *nested primery* (správně je: primery používané v *direct* a *nested PCR*). Chyby jsou dále i v Tab. IX – uvedené velikosti PCR produktů neodpovídají citovanému článku. Chybí uvedení složení a koncentrace akrylamidového gelu pro RFLP.

V části Výsledky v rozsahu pěti stran textu spolu s deseti stranami příloh, kde jsou uvedeny autorkou dosažené výsledky dokladované převážně formou fotografií. Na str. 32 je opět chybně uvedena předpokládaná délka amplifikovaného úseku pomocí primerů

L15F1/MapR1 uvedených genů: nikoliv 1850 bp, ale cca 2800 bp. V části Přílohy bych měla připomínky pouze k nedostatečné viditelnosti markerů na gelech s PCR produkty.

V části Diskuze je velice podrobně popsána genetická analýza získaných sekvencí genů, jejich variabilita a porovnání se sekvencemi dostupnými v GenBank. Analýza se týká nejpodobnějších sekvencí získaných z různých hostitelů, nikoliv sekvencí získaných ze stejného hostitele, tj. prvosence. Možná by bylo zajímavé porovnání sekvencí získaných z tohoto hostitele v Německu a Velké Británii, jak je uvedeno na začátku práce.

Autorce se podařilo splnit cíle vymezené v bakalářské práci. Práci považuji za rozsáhlou vzhledem k množství provedených PCR reakcí s mnoha primery amplifikujícími vybrané geny. Také detailní genetická analýza a zjištění variability v genech považuji za přínosné ve studiu fytoplazem.

Výhrady mám ke gramatickým a odborným nepřesnostem, které se objevují v celé práci. V části Seznam použité literatury nebyl dodržen jednotný systém citace, chyby jsou i ve jménech autorů.


Otázky k obhajobě:

1. Str. 19: Barvínek růžový (*Catharanthus roseus*) je považován za hlavní indikátorovou rostlinu pro fytoplazmové infekce. Z jakého důvodu se používají další (celer, tabák, salát, brukev aj.) jako indikátorové rostliny, jak uvádíte na str. 19?
2. Fytoplazmy obsahují kromě DNA také ribozomální RNA. Tudíž by bylo možno detekovat v rostlinách fytoplazmy také pomocí RNA. Jaký je Váš názor, byly by rozdíly v citlivosti detekce?

I přes výše uvedené připomínky považuji bakalářskou práci za odborně náročnou, experimentálně rozsáhlou a přínosnou pro studium fytoplazem. Proto doporučuji diplomovou práci k obhajobě a po zodpovězení připomínek navrhuji klasifikaci stupněm

- výborně - .

V Český Budějovicích, dne 22. 5. 2014


Ing. Jaroslava Příbylová, Ph.D.