



RNDr. Iva Fuková, Ph.D.  
Laboratoř molekulární cytogenetiky  
Ústav molekulární biologie rostlin, BC AVČR, v.v.i.  
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice  
Telefon: (+420) 387 775 511  
Fax: (+420) 385 310 356  
E-mail: [ifukova@umbr.cas.cz](mailto:ifukova@umbr.cas.cz)

---

## Oponentský posudek bakalářské práce Miroslavy Šlajsové:

### Mapování karyotypu mšice broskvoňové (*Myzus persicae*) metodou BAC FISH

Předmětem bakalářské práce Mirky Šlajsové je příprava cytogenetických markerů pro studium mechanismů rezistence u mšice broskvoňové. Členění a rozsah práce odpovídá požadavkům kladeným na tento typ prezentace. K jednotlivým částem mám několik dotazů a připomínek uvedených v textu níže:

- V úvodu se autorka poměrně hodně věnuje okřídleným formám mšic a není zcela zjevné proč, má to pro práci vůbec nějaký význam?
- Přítomnost okřídlených forem navíc není nejtypičtějším znakem skupiny (resp. druhu). Spíš by se zde podle mého názoru hodilo zmínit např. existenci symbiotických bakterií, o které se jinak čtenář dozví až z citace v metodách, případně pak až z výsledků, kam se naopak tato vysvětlující pasáž příliš nehodí.

Cíle práce jsou stručné a jasné, je evidentní z čeho vyplývá zvolený postup a jaký je význam a očekávané výsledky této studie.

Metody práce jsou stručné a přehledné, kde je to vhodné a možné, jsou uvedeny odkazy na již publikované postupy, případně doporučení výrobců použitých kitů. Autorka se zbytečně nerozepisuje, přitom jsou však uvedené metody naprosto dostačující pro případné opakování pokusů. Chtěla bych vznést následující dotazy:

- Jaký byl objem PCR reakcí (kap. 3.3, str. 9)? Jaká byla koncentrace templátu v reakci?
- Po lyzování bakterií na membráně a neutralizaci byla membrána oplachována ještě v SSC. Jaká byla koncentrace roztoku? V textu je psáno 2x SSC, ale uvedené složení odpovídá koncentraci 10x vyšší (kap. 3.4, str. 9)
- V téže kapitole na str. 10 chybí rozepsání složení roztoků TBS a TBE.
- Proč se při BAC FISH používalo 240 ng sondy značené Cy3 a 500 ng sondy značené fluoresceinem?

Kapitola výsledků je bohužel nejslabší částí práce, kdy jsou nedostatečně zdokumentovány hlavní výsledky práce. Měla bych následující připomínky a otázky:

- Na základě čeho autorka předpokládá, že je zastoupení bakteriální DNA ve vzorcích z nožiček nižší než z celých mšic? Ověřila si nějak tento předpoklad?
- Z tabulky 1 na str. 14 ani z textu příslušné kapitoly není jasné, co to znamená plazmidová DNA „ano“ nebo „-“? Obdobně pak u sloupečku BAC FISH. Byly příslušné klony vybrány pro použití dané metody, nebo byla metoda provedena nebo se snad jedná o pozitivní výsledek pokusu? Částečné osvětlení přináší až následující kapitola.
- Prezentace výsledků je neuspokojivá, proč není ukázáno více výsledků hybridizací *in situ*? Z řady popisovaných pozorování jsou ukázány pouze dva obrázky(!) Jak může věta začínající: „Zajímavý výsledek byl pozorován...“, končit poznámkou neukázáno? Dále by u hybridizačního signálu sondy A2 na obr. 4b na str. 16, který má pokrývat celou délku chromosomu, bylo prospěšné rozložení obrázku na jednotlivé kanály - takto zelený signál více méně splývá s podbarvením DAPI a není tak možné posoudit tvrzení autorky o jeho rozsahu.
- Sondy byly hybridizovány po dvojicích a téměř vždy byly lokalizovány na jednom velkém chromosomu. Jak si autorka vysvětluje tuto shodu? Nežjišťovala nějak blíže, zda se jedná o týž element? Např. hybridizací sond křížem z různých dvojic?

Diskuze je dobře vedená a zodpověděla několik mých dotazů a připomínek. Celkově je práce celkem zdařilá, dobře se čte a vyskytuje se v ní minimum nepřesností a chyb. Mirka v ní ukázala, že během studia zvládla řadu základních molekulárních a cytogenetických metod a úspěšně se poprala též s nelehkým materiálem. Jen je škoda přílišné střízlivosti při prezentaci výsledků hybridizací na chromosomech mšice. Přesto věřím, že práce bude podkladem k publikaci výsledků v odborném periodiku a zejména pak k úspěšné obhajobě bakalářského titulu autorky.

České Budějovice, 24. 5. 2016

Iva Fuková