

Posudek oponenta

Autor práce: Gabriela VRBOVÁ

Název práce: Multigenová charakterizace izolátů Turnip mosaic virus v České republice

Typ práce: bakalářská

Kritérium hodnocení		Hodnocení						
		A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
1	rozsah práce, vyváženost rozsahů jednotlivých částí a jejich strukturovanost					X		
2	kvalita literární rešerše (např. množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)					X		
3	naplnění cílů podle zadání práce a poznatků z literární rešerše				X			
4	správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (např. srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)							
5	správnost používání citačních odkazů (např. přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací)					X		
6	výstižnost souhrnu práce v českém a anglickém jazyce			X				
7	grafická úprava textu a obrázků							
8	jazyková a stylistická úroveň, respektování platné nomenklatury a terminologie					X		
9	volba vhodných experimentálních metod			X				
10	srozumitelnost a výstižnost popisu používaných metod				X			
11	úroveň zpracování experimentálních dat				X			
12	adekvátnost interpretace dílčích experimentálních dat				X			
13	diskuze (souhrn získaných výsledků a jejich začlenění do kontextu dosavadního výzkumu)					X		

Známka	E
---------------	----------

Studentka Veronika Vrbová se ve své práci zabývá charakteristikou viru mozaiky vodnice, *Turnip mosaic virus*, z čeledi ss(+)RNA virů *Potyvirodidae*. Práce má standardní členění, hlavními částmi jsou Literární přehled (15 stran), Materiál a Metody (5 str.), Výsledky (8 str.), Diskuze (3 str.), Závěr (1 str.), Literatura (40 citací); tyto jsou doplněny dalšími náležitostmi jako Seznam symbolů a zkratk, Seznamy obrázků a tabulek, Úvod a Cíle práce.

Literární přehled shrnuje poznatky o viru mozaiky vodnice (TuMV), je charakterizován jeho genom, hostitelský okruh, symptomy u různých hostitelů, způsob přenosu, geografické rozšíření, genetická variabilita a rozdělení izolátů do fylogenetických skupin. Spíše okrajově je zmíněna existence genů

rezistence vůči TuMV u tuřínů a zelí a management TuMV v zemědělské praxi. Literární přehled je zpracován poněkud nelogicky (viz pořadí témat výše), čerpá z cca 5ti hlavních publikací, které jsou spíše jen doplněny dalšími, což je s ohledem na prostudovanost tohoto tématu a množství dostupných poznatků relativně málo. Jednotlivé části nejsou příliš propojeny, jedná se spíše o nepřesné překlady vět a odstavců v publikacích (ale vždy správně citovaných), které jsou řazené za sebou. Z toho pak vyplývá i nízká odborná kvalita textu, místy jeho zmatečnost a nevyváženost. Celý text bohužel působí dojmem použití automatického překladače z anglického jazyka, obsahuje celou řadu překlepů, věty na sebe někdy nenavazují, případně postrádají shodu podmětu s přísudkem.

V kapitole Materiál a metody jsou shrnuty základní postupy a vybavení použité při řešení experimentální části práce. V kapitole postrádám náznak zvolené strategie sekvenování genomu studovaných izolátů TuMV, postrádám informaci o způsobu vyhodnocování výsledků RT-PCR amplifikace jednotlivých fragmentů a o způsobu sekvenování získaných ampliconů. Pokud byl při sestavování úplných genomických sekvencí použita nějaká referenční sekvence, je vždy vhodné tuto sekvenci jasně identifikovat (uvést zdroj a její jedinečné označení) již v této části.

V kapitole Výsledky jsou analyzovány genomické sekvence dvou českých izolátů TuMV, Tumv29 a TuMV GZ42. Autorka uvádí, že byly získány dvě kompletní genomické sekvence o délce 9772 a 9753nt, není však jasné jak byla tato sekvence získána. Ani v případě, že si čtenář sám spojí dílčí informace uvedené v kapitole Materiál a metody a ve Výsledcích, není možné získat sekvence o uvedené délce. Získané sekvence jsou porovnány na základě nukleotidové sekvence a dedukované sekvence polyproteinu kódovaného hlavním ORF1. Popisy zjištěných identit jsou relativně obsáhlé, z důvodu formálně ale poněkud nepřehledné, kdy není jasné, jaké izoláty jsou hodnoceny. Tato analýza je doplněna tzv. 'heat' mapou/mapami, které jsou zdánlivě přehlednější; bohužel jsou ale formálně zpracovány nejednotně, což orientaci v tzv. tabulkách opět zhoršuje. Pokud bude studentka v budoucnu takového výstupu zpracovávat, doporučuji minimálně dodržet pořadí analyzovaných izolátů, případně je uspořádat v souladu s větvením fylogenetických stromů. Za dosti odvážné považuji i tvrzení, že TuMV izolát CAR37 „nebyl odebrán daleko od místa výskytu izolátu GZ42“.

Fylogenetické vztahy byly analyzovány na základě nukleotidových a aminokyselinových sekvencí sestavených do matic pomocí algoritmu ClustalW a za použití algoritmu Neighbor-Joining. Vzhledem k tomu, že se jedná o odlišné typy sekvencí, bylo by vhodné uvést, jaké modely byly použity. Zároveň mi není jasné, proč byly v těchto analýzách použity odlišné sekvence (v stromech je jich odlišný počet, některé v obou stromech chybí anebo „přebývají“). Je škoda, že nebyl využit potenciál daný získáním téměř kompletních sekvencí TuMV a nebyla provedena návazná analýza jednotlivých genů a proteinů (jak bylo původně plánováno v cílech práce v zadání; a nebyla (i s ohledem na četnost rekombinací v jednotlivých oblastech genomu zjištěných jinými autory) provedena ani rekombinantní analýza těchto českých izolátů.

Diskuse je spíše shrnutím některých poznatků z literárního přehledu a shrnutím vlastních výsledků, než diskusí, což je bohužel u bakalářských prací relativně časté.

Závěr shrnuje nejvýznamnější zjištění studentky, nepovažuji však za nutné v rámci této části opakovat v samostatných větách metodické postupy.

V kapitole Literatura je citováno 40 prací, v práci postrádám citaci internetového zdroje „Virus nekrotické mozaiky brukvovitých“. Zároveň bych doporučila se v odborné práci pokud možno vyhýbat popularizujícím materiálům pro zemědělce a zahrádkáře (ať už českém nebo anglickém jazyce).

Jazyková a stylistická úroveň je bohužel dosti špatná. Vlastní jazyk je dosti nekonzistentní (bylo provedeno – se prováděla), což bylo způsobeno zřejmě dostupností více nebo méně detailně zpracovaných laboratorních návodů v českém jazyce. Zmatečnost, překlepy a neshoda podmětu s přísudkem se objevují ve všech částech (nejen v literárním přehledu). Tabulky jsou formálně zpracovány graficky nejednotně, u tabulky č. 6

není jasné, jaké sekvence byly porovnávány, v seznamu tabulek a obrázků se obvykle uvádí jen jejich názvy bez doplňující legendy. Naopak u obrázku č. 1 legenda chybí, u obrázku č. 2 je chybně citován zdroj. V seznamu literatury je použito nejméně pět odlišných stylů.

K práci mám, kromě výše uvedených poznámek) následující dotazy:

- V práci uvádíte, že první rozdělení izolátů TuMV bylo provedeno na základě tzv. biologické patotypizace. Co je podstatou tohoto rozdělení, jak a na základě čeho byste mohla izolát zařadit do konkrétního biologického patotypu?
- V literárním přehledu se zabýváte geografickým rozšířením TuMV (kap. 3.4). A to typů („kmenů“) Asian-BR, Basal-BR a World-B3. Je něco známo o distribuci ostatních typů TuMV?
- Prosím také o objasnění aktuálního dělení TuMV do fylogenetických skupin, kolik těchto skupin (a jakých) je v současnosti popisováno?
- Prosím o objasnění tabulky č. 1: co tato tabulka vyjadřuje, jak byla získána? Dovoluji si nesouhlasit s tvrzením, že „genetická informace TuMV obsahuje 44 rekombinačních míst“.
- Prosím o objasnění pojmů „virus“ a „virion“.
- Jaké amplikony/genomické fragmenty studentka získala (3 – 2 – méně – více?) Kdo je autorem primerů použitých pro jejich amplifikaci?
- Jaká byla zvolená sekvenační strategie, která umožnila získání analyzovaných sekvencí izolátů TuMV; jakým způsobem byly získány jednotlivé fragmenty a jak byly sekvenovány (pokud studentka sekvenování neprováděla, musí znát aspoň metodu, jednoduchý metodický přístup, jakým byly získány sekvenční výstupy, s nimiž pracovala).
- Prosím o objasnění tabulky č. 5: aminokyselinová pozice (začátek ORF1 v pozici 0)?; počet aminokyselin (...+STOP)? Oba izoláty byly v tomto smyslu totožné, i když se délka získaných „kompletních“ sekvencí lišila?
- Jaké sekvence (velikost/oblast) byly porovnávány v rámci analýzy genetické variability a v rámci hodnocení fylogenetických vztahů? Proč byla provedena analýza pouze ORF1 a jím kódovaného polyproteinu?
- V posledních letech se v ochraně plodin vůči virům, a potyvirům, využívají i genetické modifikace rostlin. Byl tento přístup někdy úspěšně použit i v případě ochrany vůči TuMV?

Práci i přes uvedené kritické výhrady doporučuji k obhajobě.

Závěr: práci doporučuji k obhajobě

V Olomouci dne: 23.8.2022

Podpis:

Mgr. Dana Šafářová, Ph.D.