

Oponentský posudek diplomové práce

**Produkce primárních a sekundárních metabolitů u
vybraných plísní**

Bc. Denisy Pálkové

Diplomová práce Bc. Denisy Pálkové je členěna do dvou částí. V první části se diplomantka věnovala izolaci hydrofobinů, což jsou jedny z primárních metabolitů plísní a následně se pokusila zavést metodu jejich detekce. V druhé části autorka zpracovala pomocí klasických kultivačních technik 15 vzorků sladovnického ječmene, následně vyizolovala 19 druhů plísní rodu *Fusarium* a u těchto vzorků zjišťovala pomocí polymerázové řetězové reakce přítomnost *TRI 5* genu, který kóduje produkci trichothecenových mykotoxinů – což jsou sekundární metabolity plísní rodu *Fusarium*.

Práce je přehledně členěna do několika kapitol, tak jak to bývá u diplomových prací zvykem. V teoretické části se diplomantka věnuje krátce popisu plísní rodu *Fusarium*, stěžejní část se zabývá popisem primárních a sekundárních metabolitů plísní, především se zaměřením na hydrofobiny a jejich detekci.

Experimentální část práce je řešena v souladu s aktuálními metodickými postupy používanými v laboratoři. Autorka navazuje na předcházející studie, které se zabývaly podobnou tematikou.

Výsledky jsou přehledně zpracovány a vhodně doplněny o záznamy Tricin – SDS PAGE, spektra získaná z hmotnostního spektrometru MALDI-LTQ Orbitrap XL, elektroforeogramy, tabulky a obrázky, které jsou taktéž součástí přílohy. Ze získaných výsledků lze jednoznačně konstatovat, že diplomantka provedla skutečně velké množství experimentů, nejen mikrobiologických, ale také imunochemických a analytických. Výsledkovou část hodnotím jako zdařilou, ze získaných výsledků diplomantka vyvozuje závěry, které se snaží diskutovat s jinými odbornými pracemi s podobnou tematikou.

Seznam literatury je psán v jednotném stylu, literatura citována dle platné normy ČSN ISO 690 (více v připomínkách).

Celá práce je zpracována celkem pečlivě a přehledně, s minimálním počtem překlepů a drobností.

K diplomové práci mám následující připomínky:

- 1) Limity mykotoxinů v potravinách a krmivech by si hned v úvodu práce (str. 14) zasloužily lepší **odkaz** než Sýkorová et al. 2002 (který by měl být správně uveden jako Sýkorová a kol. 2002) – např. Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, které sice autorka uvádí na str. 35, ale pro změnu postrádám uvedení tohoto nařízení v **seznamu literatury (dle autorky zdroje)**.
- 2) **V textu jsem nikde nenašla odkazy na obrázky 1, 2 a 3.**
- 3) Jelikož je práce psaná v češtině, měly by být přeloženy **popisky u obr. 7** (str. 27).

- 4) **Odkaz** Rittem et al. 1984 (str. 32) je v seznamu literatury uveden jako Rottem et al. 1984. Jedná se zřejmě o překlep, která varianta je správná?
- 5) **Vzorce mykotoxinů** uvedených na str. 33 a 34 by stálo za to sjednotit, nebo aspoň u obr. 11 a 12 (str. 34) smazat název mykotoxinu uvnitř obrázku.
- 6) Na str. 44 by stálo za zmínku **vysvětlit zkratku CCM F** a napsat jméno sbírky ze které plísně pocházejí – vím, že pro „lidi z oboru“ je to jasné, ale pokud by chtěl experiment zopakovat někdo další, musel by data dohledávat.
- 7) Na str. 50 u kapitoly 3.9.5 chybí **podmínky kultivace** sklíčkové kultury, čtenář se podmínky dozví až ve výsledkové části na straně 64. A na stejné straně kapitola 3.9.7 by zřejmě měla být **nazvána Amplifikace DNA**, neboť izolace je uvedena již v kapitole 3.9.6.
- 8) Lze změnit ve spektrech **označení vzorku u obr. 20** (str. 59) z 1, 2, 3 na 4, 5, 6? Stejná situace je i u **obrázků 21 a 22**.
- 9) Na str. 63 je zřejmě překlep u počtu plísní u odrůdy Malz na půdě DRBC. Autorka uvádí 0, zřejmě dle použitého ředění má být hodnota $< 10^3$ cfu/g.
- 10) Co se týče literatury, je v textu citována dle autorů a v seznamu literatury je i abecedně uvedena – jen je trochu matoucí její číslování.

K diplomové práci mám následující dotazy:

- 1) Byly vzorky, u kterých byl zjištěn počet plísní $< 10^3$ cfu/g, zpracovány znovu ale s nižším ředěním, když autorka tvrdí, že u 4 vzorků z 15 nebyly nalezeny žádné plísně? Předpokládám, že počet plísní byl $< 10^1$ cfu/g.
- 2) Jak autorka číslovala fusária získaná ze vzorků, která byla podrobena PCR? Uvádí, že vyizolovala 19 fusárií, které podrobila PCR, ale na str. 66 má vzorky označené 1-22, přičemž čísla 2, 6 a 8 chybí, takže číslo odpovídá zmiňovaným 19 izolátů. Byly snad vzorky 2, 6 a 8 zpočátku podezřelé na výskyt plísní rodu *Fusarium*, ale další stanovení pomocí mikroskopických a makroskopických znaků přítomnost plísní vyloučila?
- 3) Jak si autorka vysvětluje tak vysoký počet pozitivních vzorků na přítomnost *TRI 5* genu, což není u fusárií pravidlem? Je to pouze náhoda a autorka měla štěstí na pozitivní vzorky, nebo mohly být vzorky nějakým způsobem ovlivněny?
- 4) Pomocí hmotnostní spektrometrie se bohužel nepodařilo potvrdit přítomnost hydrofobinů. Jakou další optimalizaci metody autorka navrhuje?

Souhrnně lze konstatovat, že vytčené cíle práce byly splněny. Výše uvedené připomínky nijak nesnižují kvalitu práce, a plně doporučuji přijmout diplomovou práci Bc. Denisy Pálkové k obhajobě a navrhuji její klasifikaci stupněm

výborně.

V Pardubicích dne 27. května 2015


Ing. Petra Mořková, Ph.D.