



Oponentský posudek diplomové práce

Název práce: Zavedení molekulárně biologických metod pro identifikaci plísní rodu *Fusarium* z ječmene

Autor: Bc. Kristýna Holíková

Předložená diplomová práce Bc. Kristýny Holíkové se zabývá problematikou identifikace plísní rodu *Fusarium* v ječmeni. Věnuje se především extrakci plísňové DNA ze vzorků zrn ječmene bez předešlé izolace čistých kultur fuzárií a následné analýze DNA multiplexní polymerázovou řetězovou reakcí.

Diplomová práce má rozsah 67 stran, včetně souhrnu literatury a přílohy.

V teoretické části diplomantka charakterizuje rod *Fusarium* a zaměřuje se především na fytopatogenní zástupce tohoto rodu. Upozorňuje na problém fusáriových mykotoxinů a zmiňuje možnosti jejich analýzy. Dále se věnuje identifikaci plísní rodu *Fusarium* a extrakci plísňové DNA.

Praktická část práce je vypracována v souladu s aktuálními metodickými postupy používanými v laboratoři. Diplomantka popisuje použitý materiál a prováděné pracovní postupy.

V kapitole Výsledky se diplomantka věnuje optimalizačním postupům extrakce DNA, PCR stanovení a elektroforézy.

Oceňuji diskuzi s výsledky a závěry jiných autorů zabývajících se podobnou tematikou. Diplomantka nashromáždila 59 citačních odkazů, bohužel 24 z nich je starších více než deset let. Seznam literatury je psán jednotně dle platné normy ČSN ISO 690.

Diplomantka měla omezené časové možnosti věnování se praktické části diplomové práce z důvodu protikoronavirových opatření. Na druhou stranu se mohla více věnovat teorii, která mohla být pestřeji doplněná obrázkovou dokumentací a obohacena o aktuálnější publikace.

K diplomové práci mám následující připomínky:

- 1) Dovolím si upozornit na častější překlepy v textu diplomové práce.
- 2) Zkratka TE chybí v seznamu zkratk.
- 3) Strana 40, tabulka 6 – dopočítala jsem se celkového objemu pro PCR reakci 24 μ l namísto uváděných 25 μ l.

- 4) Strana 45, kapitola 3.4.1 Optimalizace homogenizace vzorku – je zde uvedena navážka 10 g vzorku ječmene a doplnění 35 μ l promývacího pufru. Předpokládám, že objem tohoto pufru by měl být 35 ml.

Prosím o zodpovězení následujících dotazů:

- 1) V kapitole 3.4.3 Extrakce DNA dle kitu DNeasy®Plant Mini Kit diplomantka popisuje výsledky, které i znázorňuje obrázek 6. Nejlepšího výsledku dosahuje metoda B, za ní následuje metoda D. Na obrázku výsledné elektroforézy u metody D není vidět žádný proužek, asi bych ho zde očekávala, navíc když je uvedeno, že při spektrofotometrickém měření byla DNA naměřena. Poté metoda C není vůbec okomentována stejně tak i metoda A. Prosím o dovysvětlení.
- 2) V práci je uvedeno, že při extrakci DNA z mycelia plísni izolovaných z půdy nebyla získána DNA pomocí DNeasy®Plant Mini v dostatečné koncentraci a z časových důvodů nebyla provedena optimalizace. Jak by autorka dále postupovala, aby získala dostatečně čistou a koncentrovanou DNA?
- 3) Jaký je původ vzorku 603, který obsahoval všechny stanovované druhy plísně rodu *Fusarium*?

Předložená diplomová práce je na dobré úrovni. Uvedené připomínky nesnižují kvalitu předložené práce a diplomovou práci Bc. Kristýny Holíkové doporučuji k obhajobě a klasifikuji známkou

B.

V Pardubicích dne 30. července 2021

Ing. Květa Koryčanová, Ph.D.