

Školitelský posudek na magisterskou práci (2012)

Martina Holenková

Studium fyziologie a hledání proteomických nástrojů pro supresi a detekci *Varroa destructor*

Magisterská práce Martiny Holenkové byla zaměřena na studium fyziologie *Apis mellifera* a jejího parazita roztoče *Varroa destructor*. Cílem práce bylo analyzovat na proteinové úrovni enzymy a další proteiny *Varroa* a porovnat je s *Apis mellifera*. Metodicky byla práce zaměřena především proteomicky a enzymologicky a součástí práce byla také histologie *Varroa destructor*.

Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu

Diplomová práce Martiny Holenkové je pokusem o získání nových informací o fyziologii parazitického roztoče *Varroa destructor* a jeho hosta *Apis mellifera*. Velkým přínosem celé práce je, že při jejím řešení byly optimalizovány metody a postupy, které v daném oboru nebyly na daný typ vzorků dosud použity. Byly optimalizované metody pro získání 2D elektroforetogramu *Varroa destructor* a *Apis mellifera*. V 2D elektroforetogramu *Varroa* byly identifikovány včelí hexameriny, které pocházely z hemolymfy včel, kde jsou dominantními proteiny. Z proteinů, které náležely *Varroa destructor* byly úspěšně identifikovány proteiny s vysokou abundancí jako hemelipoglycoprotein precursor, arginin kinázy, actin glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenázy. Např. arginin kinázy mohou být v budoucnu využity jako cíl pro boj s *Varroa*. Dále byly identifikovány proteiny ve stadiu larvy krmeném mateří kašičkou a také ve stadiu kukly, které poskytují důležité informace o biologii včel. Pomocí zymogramů byly porovnány klíčové sledované enzymy *Varroa* a larvy a kukly *Apis mellifera*. Aktivace trypsinové a chitinolytické aktivity ve stadiu kukly oproti larválnímu stádiu koresponduje s nastartováním metabolických přeměn v metamorfóze. Oproti vzorkům včely byla ve vzorcích *Varroa* identifikována β -glukosidázová a cathepsin D aktivita. Navíc byla v průběhu diplomové práce provedena parafinová histologie *Varroa*, která poslouží pro zorientování se v řezech pro budoucí histologickou lokalizaci proteinů.

Práce je metodicky bohatá a prezentuje výsledky kvalitní metodické úrovně.

Některé myšlenky uvedené např. v diskusi vedou k zamyšlení do budoucna.

Výsledky práce jsou příslibem do budoucna a projevily se také ve výročních zprávách projektu, ze kterého byla praktická část financována: OC 10016, COST FA0803 action.

Formální kvalita předloženého spisu

Formálně se jedná o kvalitní diplomovou práci včetně doprovodných obrázků a tabulek.

Jazyk

Po jazykové stránce má diplomová práce poměrně kvalitní úroveň a je bez závažných prohřešků proti gramatice.

Hodnocení částí předkládaného spisu

1 Literární přehled

Literární přehled je dosti obsáhlý a postihuje okruh problematiky biologie *Apis mellifera* a *Varroa destructor*. Literární přehled je kvalitně zpracován a doplněn schématy a tabulkami.

2 Materiál a metody

Práce je metodicky velmi bohatá, bylo použito standardních, ale i nejmodernějších metod.

3 Výsledky

V této části student prezentuje řadu výsledků, z nichž byly vybrány reprezentativní obrázky. Jsou prezentovány 2D elektroforetogramy s výsledky hmotnostní spektrometrie, zymogramy a histologie *Varroa destructor*.

4 Diskuse

Autorka diskutuje hlavní výsledky a pracuje i s myšlenkou, že výsledky jsou příslibem do budoucna, pro další výzkum. Z pořízených výsledků by se daly odvodit hlubší souvislosti, což by však předpokládalo intenzivnější vědecký přístup.

Práci doporučuji k obhájení.

Mgr. Tomáš Erban

V Praze dne 9.9.2012