

Posudek na diplomovou práci

posluchačky

Markéty Hejné

Travní druhy rzí s aecii na rodech *Rannunculus* a *Ficaria* – molekulární analýza

Předložená diplomová práce se zabývá studiem travních druhů rzí rodů *Puccinia* a *Uromyces*. Předmětem práce byl sběr aecií rzí na mezihostitelích rodu *Ficaria* a *Rannunculus* a telií a uredií rzí na hlavních hostitelích – travách, jejich určení pomocí morfologických znaků a několika metodami molekulární biologie. Na základě analýz ITS a LSU oblasti genomu bylo možno studované izoláty přiřadit k jednotlivým druhům. Práce potvrdila, že *Uromyces dactylis*, *U. poae* a *Puccinia perplexans* patří do skupiny hnědých rzí, zatímco *P. magnusiana* je od zbylých druhů geneticky více vzdálená, což odpovídá dosavadnímu taxonomickému hodnocení. Z výsledků analýz rovněž vyplývá, že druh *Uromyces poae* využívá jako mezihostitele druhy *Ficaria verna* a *Rannunculus repens*, druh rzí *Puccinia perplexans* byl nalezen pouze na mezihostiteli *Rannunculus acris* a aecie *Puccinia magnusiana* byly nalezeny pouze na *Rannunculus repens*. Některé aecie nalezené na *R. repens* zůstaly nepřirazené. Na základě sekvenční analýzy LSU oblasti genomu bylo rovněž zjištěno, že druhy *Uromyces poae* a *U. ficariae* nejsou blízce příbuzné. Z dalších použitých metod se k rozlišení druhů ukázala jako nejvhodnější metoda ISSR, která u jednotlivých studovaných druhů vykazovala specifický pattern.

Posluchačka v diplomové práci prokázala dobrou znalost dané oblasti. Výsledky odpovídají stanoveným cílům. V práci byla zvolena vhodná metodika sběru izolátů, studia morfologie, izolace DNA. Volba molekulárních metod prozrazuje jistou náhodnost, která je u posluchačky začínající v této oblasti pochopitelná.

Aplikací zvolených metod na získané vzorky rzí bylo získáno dostatečné množství dat, které jsou prezentovány formou tabulek a obrázků. Obrázky jsou až na výjimky velmi dobré kvality, zvláště informativní a vhodné jsou fotografie aeciospor a aecií a získané dendrogramy. Výhrady mám k obrázkům elektroforetogramů, kde chybí dostatečný popis vzorků – čísla u jednotlivých vzorků a jejich popis pod obrázkem.

Získaná data byla správně a vhodně interpretována. Zvláště oceňuji použití kontrol ve všech reakcích a volbu r. *Melampsora* jako tzv. outlier group vzhledem ke studovaným druhům. Výsledky práce jsou vhodně diskutovány s publikovanými údaji.

Celkově je diplomová práce velmi dobře zpracována. Členění a náplň jednotlivých kapitol odpovídá vědecké práci. Výhrady mám pouze k používání anglicismů tam, kde existuje český překlad, např. vysvětlení zkratky EDTA str. 14; použití výrazu „gapů“ str. 43, apod. a k mnohým nepřesnostem ve vyjadřování, např. str. 24 ... DNA fragmentů získaných *restrikcí* endonukleázami...; str. 33, 34 a dále: ...výsledky *zviditelněny* na gelové elektroforéze...; str. 33 ... s *kapkou* nanášecího roztoku...; str. 35 ... byla použita DNA *neředěná*, apod. V práci je rovněž několik stylistických chyb a překlepů.

Ke studované problematice obecně bych se ráda zeptala, jak moc četný je výskyt těchto druhů rzi na travách v České republice a co má na výskyt největší vliv?

Proč byly zvoleny pro tuto taxonomickou studii metody RAPD, rep-PCR, PCR-RFLP, ISSR? V případě pokračování práce, jakou metodu (příp. jaké metody) by posluchačka zvolila a proč?

V literárním úvodu k metodám molekulární biologie (str. 14) autorka uvádí, že je třeba DNA uvolnit z nadmolekulárních struktur – co tím má na mysli?

U metody PCR-RFLP by mě zajímalo, o jaký druh polymorfismu se jedná a pro jaké analýzy je tato metoda velmi vhodná?

V diskusi autorka píše, že je pojetí druhu u rzi všeobecně velmi problematické. Proč je problematické a proč právě u rzi?

Druhy *Uromyces poae* a *Uromyces dactylidis* se ukázaly být geneticky bližší než další studované druhy – na základě sekvenčních dat ITS a LSU oblastí tvoří jednu i když dobře strukturovanou větev dendrogramu. Rovněž literární údaje týkající se samostatnosti obou druhů nejsou jednoznačné. Je možné, že by mohlo docházet ke křížení mezi těmito druhy či formami jednoho druhu a s jakou pravděpodobností?

Vzhledem k úrovni, rozsahu a kvalitě výsledků hodnotím diplomovou práci známkou výborně.

V Praze dne 18. září 2008



RNDr. Mgr. Leona Leišová, Ph.D.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.