

**Rozšíření a význam latentního patogenu *Cryptostroma corticale* na *Acer pseudoplatanus*
v Praze**

Autorka DP: Bc. Ivana Kelnarová

Vedoucí DP: Mgr. Ondřej Koukol, Ph.D.

Oponent DP: Mgr. Taťána Sumíková, Ph.D.

Diplomová práce Ivany Kelnarové se zabývá rozšíření a významem, v České republice dosud příliš nezkoumaným, patogenem *Cryptostroma corticale* na javoru kleny na vybraných lokalitách v Praze. Téma práce je zajímavé a přínosné nejen z fytopatologického hlediska. Autorka úspěšně naplnila všechny vytyčené cíle a získané poznatky přehledně zpracovala, statisticky vyhodnotila do tabulek a grafů, vhodně doplnila schémata a fotografiemi a získané výsledky přehledně shrnula do závěrů. Metodické postupy jsou popsány pečlivě, jen u metodiky popisující prováděné terénní odběry vývrtů chybí informace, kdy přesně došlo k jednotlivým odběrům na konkrétních lokalitách a jednoznačně ani není z metodiky zřejmé, že odběry byly z každé lokality prováděny jednou. Diplomantka prokázala zvládnutí technik detekce a identifikace mikromycet pomocí morfologických i molekulárních metod. Kladně hodnotím zejména úspěšnou optimalizaci metody nested PCR, včetně navržení vlastních specifických primerů, umožňující rychlou detekci sledovaného patogena z pletiv hostitele. V kapitole Diskuze jsou získané poznatky vhodně porovnány s literaturou a účelně okomentovány názory autorky. Diplomová práce má standartní členění a je psána stručným a jasným stylem. Doporučuji ji k obhajobě a hodnotím ji stupněm výborně.

Technické připomínky

1. Abstrakt: Zkratku SBD uvést hned v první větě abstraktu, kde se poprvé vyskytuje „sooty bark disease“.

Nahradit spojení „kvantifikovat latentní výskyt *C. corticale*“ vhodnějším výrazem (mapovat, detekovat), v kontextu této práce je to matoucí a nepřesné.

Celkový počet vývrtů (112) je vhodnější uvést dříve, např. ve větě „Latentní nákaza byla detekovaná ve 28 vývrtech“.

2. Do klíčových slov přidat „sazná nemoc kůry“ resp. „sooty bark disease“
3. Metodika 3.1: Neuvádět „zahradu Kinských“, přestože patří mezi parky celopražského významu, odběry zde nebyly prováděny.
4. Obr. 5: V popisu je chybně uvedeno označení pletiva z okrajové části kmene.
5. Výsledky 4.1: Je uveden chybný odkaz na přílohu.
6. Chybí citace literatury, podle které bylo provedeno morfologické určení izolátů.
7. Citace O'Donnell a Cigelnik 1997 a Vitale a Santori 2011 nejsou v textu.
8. Citace Nears 2006, Schena 2013, O'Donnell 1993, Jacquit et al 2000, Brázdil a Budíková 1999, Tello 2000, Kowalski a Kehr 1992, Stone et al. 2004 nejsou uvedeny v seznamu literatury.
9. U některých citací v textu chybí „et al“ (str. 14 Abbott et al. 1977, str. 19 Capote et al. 2012, str. 23 Altschul et al. 1990, str. 39 Gregová et al. 2006).

Otázky

1. Prosím autorku o krátkou vlastní úvahu o potenciálu využití rané detekce patogena (v latentní fázi) v otázkách možné prevence v ochraně hostitelských dřevin k sazné nemoci kůry. Může brzká detekce *Cryprostroma corticale* umožnit posun v přístupu v ochraně proti této chorobě?
2. Dokázala byste odhadnout, které lokality v ČR (mimo Prahy), by mohly být ohroženy zvýšeným výskytem *C. corticale*?
3. Je známo, jak dlouhá bývá průměrně latentní fáze patogena *C. corticale*?
4. Uvádíte, že odběry ze sedmi lokalit byly provedeny od března 2013 do listopadu 2014. Také uvádíte, že mnohé houby izolované z odběrů v letních měsících se nepodařilo kultivovat, pravděpodobně kvůli vysokým teplotám. Nemohla by tedy být homogenita odběrů a následně získané výsledky ovlivněny a zkresleny dlouhým časovým intervalem mezi odběry na jednotlivých lokalitách?
5. Proč se metodika odběru standardně provádí ve výšce 120cm? Existují nějaké biologické a praktické aspekty volby právě této výšky odběru?
6. Uvádíte, že jste použila k izolaci DNA ZR Plant/Seed DNA kit, ale že koncentrace DNA sledovaného patogena byla příliš nízká pro detekci pomocí jedнокrokové PCR se specifickými primery. Myslíte si, že volba jiné metody izolace DNA by mohla vést k vyššímu výtěžku DNA, která by umožnila úspěšné použití i jedнокrokové PCR?
7. U kolika vzorků musela být opakována nested PCR, protože neměly pozitivní shodu u obou použitých primerů? Byly některé takovéto vzorky nakonec označeny jako negativní?
8. Jak byste vysvětlila rozdílnou distribuci izolátů u nezbarvených a zbarvených vývrtů?
9. Proč jste zvolili oproti citované literatuře, jak uvádíte „značně agresivní“ způsob sterilizace vývrtů?