

Oponentský posudek na diplomovou práci Petry Bukovské (Katedra botaniky PŘ. f. UK, Praha) s názvem: „Dekompozice listového opadu mikroskopickými houbami na antropogenních stanovištích“

Diplomová práce se zabývá tématem, které je vhodné jak z hlediska odborného (je aktuální a přináší nové poznatky) tak i z hlediska pedagogického (vyžaduje znalosti ze systematiky mikroskopických hub, základní znalosti molekulárně genetických metod, laboratorní zručnost při kultivaci a uchování mikroorganismů, systematickosti v práci a schopnost si ji organizovat a konečně také znalosti potřebné pro sběr dat a jejich analýzu i schopnost je aplikovat).

Charakter a zaměření diplomové práce vycházejí ze zadání. Objem dat nahromaděných během práce je značný (jak se lze přesvědčit například z tabulek č. 6, 7, 8 a 9), což klade nezanedbatelné nároky na jejich zpracování a vhodnou prezentaci a interpretaci. Práce se vyznačuje snahou o co nejúplnější taxonomické zařazení jednotlivých zachycených druhů hub. Tato činnost byla prováděna evidentně s maximální pečlivostí a dozajista se zde projevily také pedagogické kvality školitelky. Není tu pochyb o vysoké kvalitě získaných výsledků.

Metodický přístup je z větší části klasický, šlo tedy o zjišťování výskytu jednotlivých taxonů hub v rozkládaném materiálu kultivačními metodami a o sledování rychlosti rozkladu. Tento přístup byl doplněn v některých případech identifikací izolátů za použití molekulárně genetických nástrojů, tedy srovnáváním sekvencí nukleotidů některých izolátů s databází GenBank. Byla také použita metoda charakterizace společenstev hub na obou sledovaných lokalitách, využívající polymorfizmu terminálních restrikčních fragmentů DNA amplifikované ze vzorků.

Posledně jmenovaná metoda byla založena na literárním zdroji využívajícím skupinově specifické DNA primery pro několik skupin hub a houbových organismů. Zde musela diplomantka bojovat se špatně navrženým primerem domněle specifickým pro Zygomycota, který však ve skutečnosti tuto skupinu zcela opomíjí. Musela proto navrhnout primer vlastní, přičemž prokázala značnou samostatnost, zručnost, trpělivost a hluboké porozumění problému. O výsledku se lze přesvědčit v tabulce č. 4. Z vědeckého hlediska samozřejmě není problém skupinové detekce hub a houbových organismů zdaleka uzavřen, to ale nelze od jednotlivé diplomové práce ani zdaleka očekávat. Zde prezentované výsledky jsou však velmi hodnotné a podstatně zpřesňují stávající znalosti. Měly by být publikovány. Otázkou pouze je, zda by tyto výsledky neměly být prezentovány jako součást kapitoly „Výsledky“ a nikoli jen jako součást kapitoly „Materiál a metody“.

Metodika stanovení rychlosti rozkladu opadu a celulózy v opadových sáčcích je zvládnuta dobře, výsledky jsou správně hodnoceny a jejich hodnota spočívá nejen v popisu kinetiky rozkladu na obou sledovaných lokalitách, ale také v tom, že jsou potenciálně použitelné při obecnějším modelování rozkladu organické hmoty v půdě. To je dáno například tím, že práce obsahuje poměrně velký počet fyzikálních a zejména chemických a biochemických charakteristik studovaných substrátů, což je dost důležité. Není však vysvětleno, co znamenají zkratky „TN“ a „TP“ v tabulkách č. 1 a 2. Odhaduji, že jde o celkový dusík a celkový fosfor. Asi by také bylo vhodné vysvětlit zkratky NH₄-N, PO₄-P a NO₃-N, i když tyto zkratky jsou používány častěji a jsou lépe intuitivně zpracovatelné.

Výsledky jsou hodnoceny správně a jsou také správně interpretovány v kontextu literárních znalostí. Suma použité literatury je přiměřená, diplomantka se v literatuře dobře orientuje. Termín „lignin“ je v literatuře používán téměř výhradně v singuláru, tedy nikoli „ligniny“ (str. 7, odst. 2). Podobně bych se například snažil vyvarovat termínu „celulolyti“ a místo něj bych volil termín „rozkladači celulózy“.

Prezentace výsledků je provedena vhodně a přehledně formou grafů, tabulek a fotografických příloh, čtenář je schopen je bez potíží zpracovat. Technická a jazyková úroveň práce je velice dobrá. Frekvence překlepů a drobných jazykových chyb je nízká.

Otázky:

- proč podle literárních údajů koreluje rychlost rozkladu opadu s výškou porostu a s objemem kmenů? Nejde spíše o korelaci se stářím porostu, který je provázen postupnou pomalou adaptací společenstev rozkladačů na dané prostředí? (viz str. 18).
- proč byly molekulárně identifikovány všechny morfotypy právě u rodu *Trichoderma*? Jde o snahu o co nejpřesnější identifikaci nebo se na katedře předpokládá hlubší taxonomické studium tohoto rodu, k němuž měla práce přispět?
- na str. 32 je popsán teplotní program pro PCR, který byl používán pro amplifikaci fragmentu DNA vymezeného motivu ITS1F-NL4. Tento fragment však může snadno dosáhnout délky 1200 - 1400 bp, přičemž rychlost syntézy bývá kolem 1000 bp za minutu a zvolená délka syntetické fáze PCR byla také 1 minuta. Jak zhruba dlouhé byly získané fragmenty a jak spolehlivý byl použitý teplotní program při amplifikaci takto dlouhých fragmentů?
- z lokality Ralsko byl izolován v relativně vysoké frekvenci druh *Pezizella (Hymenoscyphus) ericae*, který je znám jako erikoidní mykorhizní houba. Tomu odpovídá i výskyt potenciální hostitelské rostliny *Calluna vulgaris* na této lokalitě. Byl tento potenciální hostitel přítomen v bezprostřední blízkosti místa, kde byly odebrány vzorky pro izolaci? Do jaké míry může být *Pezizella ericae* zodpovědná za rozklad opadu na této lokalitě?
- dále byl izolován druh *Schizophyllum commune*, který je považován za výhradně dřevokazný. Existuje nějaké vysvětlení, proč se vyskytoval v opadu?

Práce neobsahuje žádné vážné chyby nebo jiné nedostatky a splňuje všechna kritéria požadovaná pro diplomovou práci. Obsahově a odbornou hodnotou je nadstandardní. **Proto ji navrhuji hodnotit klasifikačním stupněm „výborně“.**

V Praze, dne 16. 9. 2006

doc. RNDr. Milan Gryndler, CSc.

Mikrobiologický ústav AVČR, v.v.i.
Videňská 1083
14220, Praha 4