

Posudek oponenta na diplomovou práci	
<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Michaela Schierová
	Datum: 9.9.2012
Autor:	Lucia Žifčáková
Název práce: Charakterizace společenstva hub, podílejícího se na rozkladu opadu v jehličnatých lesích Národního parku Šumava	
Cíle práce Diplomová práce je opatřena kapitolou Aims, která by mohla být velmi pěkným úvodem k definování cílů práce. Zmínku o nich však v této kapitole postrádám. Na základě abstraktu a dílčích cílů v Experimentální části jsou přesto cíle v práci definovány. Autorka si klade za cíl popsat druhovou rozmanitost houbového společenstva rozkládajícího jehličí v závislosti na půdním horizontu, ročním období a místě odběru.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? Struktura práce odpovídá, ne vždy obsah kapitoly. Rozsah práce (počet stran): 133 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO Je napsán srozumitelně? ANO Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? Většinou ANO Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO Literární přehled je podle mého názoru nepříliš rozsáhlý (14,5 strany) a autorka se bohužel omezila jen na vysvětlení ekofyziologie hub, jejich klasifikaci a popis enzymů podílejících se na rozkladu dřeva. Vzhledem k obsahu experimentální části se nabízí lépe popsat podobné studie analyzující metagenomy, metody zpracování získaných dat apod. Absenci takových informací částečně kompenzuje Diskuse, ve které autorka některé studie zmiňuje, avšak bez detailního popisu sběru materiálu a jeho zpracování. Pokud jde o citace, autorka zapomněla v Seznamu uvést práci Štrusová <i>et al.</i> (2012), hojně využívanou v Diskusi. Seznam použité literatury však korunuje publikace diplomantky z roku 2012. Formát citací v Seznamu literatury je značně nepřehledný.	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO, vedle metod mikrobiologických, molekulárně biologických a biochemických bylo použito spektrum metod pro srovnávání DNA sekvencí a pro statistické vyhodnocení. Jsou metody srozumitelně popsány? ne úplně. Autorka zčásti využila méně přehledný a zkrácený postup vhodný pro disertační práce – podrobnější postup bych očekávala zejména v kapitole 4.2.2.4. Překvapivě je část Metod uvedena až v 8. kapitole.	

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

Experimentální část je nejrozsáhlejší a zároveň nejlépe uspořádanou kapitolou této diplomové práce. Jednoznačně dokazuje velkou píli autorky. Získané sekvence byly uloženy do databáze GenBank.

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Autorka v Diskusi porovnává svá data s výsledky jiných studií, bohužel blíže nespecifikuje metodu izolace společenstva, lokalitu, metody analýzy apod. Ani při diskusi vlastních výsledků není jasné, zda výsledky pocházejí z analýzy kultivovaných vzorků nebo z odběrů použitých pro pyrosekvenční analýzu.

Závěry (Souhrn) :

Obsah Závěru spíše odpovídá Diskusi, nikoliv shrnutí hlavních výsledků. Podobně jako v Diskusi není vždy jasné, ke kterému souboru dat se závěry vztahují.

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Práce Lucie Žifčákové je sepsána v angličtině, která má dobrou úroveň. Nalezla jsem jen několik chybějících písmen.

Experimentální část je vybavena mnoha grafy a tabulkami, u kterých je však legenda často umístěna na předchozí stranu. Legendy k tabulkám nejsou vždy úplné a grafy zejména v dodatku jsou nečitelné (obr. 15-17) nebo obr. 25 na str. 83.

Autorka měla zjevně málo času na korekturu, jinak by jí neuniklo, že na str. 22 v Literárním přehledu zůstaly poznámky o chybějících citacích. Také názvy taxonomických skupin, např. Basidiomycota (např. na str. 86, 96,97) uvádí střídavě s velkým a malým písmenem. Chyby jsou i ve slovenské verzi Abstraktu.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Lucia Žifčáková vypracovala multidisciplinární diplomovou práci, s úctyhodným množstvím dat a příkladným statistickým vyhodnocením. Její kvality by proto lépe postihlo trio oponentů – taxonom, molekulární biolog a statistik. Narozdíl od vysoké kvality Experimentální části, je však úroveň Literárního přehledu spíš podprůměrná a Diskuse i Závěr nepřehledné.

Přes následující připomínky jsem přesvědčena, že Lucia Žifčáková splnila požadavky kladené na diplomové práce studentů naší katedry a doporučuji její práci k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Otázky

1. V práci používáte termín metagenom, který by zde měl být vysvětlen. Ve slovenské verzi Abstraktu je "meatgenom". Je to správný překlad nebo překlep?
2. **Na str. 21** používáte termín "saprobic basidiomycetes". Jedná se o synonymum pro „saprotrofní“ nebo označuje něco jiného?
3. **Na str. 22 (K)**: uvádíte, že pro rozklad jehličí je nutné dodat dusík. Co je jeho zdrojem?
4. **str. 31**: V kapitole 4.1.4.1. popisujete přípravu mycelia pro stanovení enzymových aktivit. Kmeny kultivujete 14 dnů, ale na stanovení používáte cca 7 dnů staré mycelium. Můžete to, prosím, vysvětlit? V diplomové práci by pravděpodobně pomohl obrázek.
5. **str. 32(T)**: Proč jste používala teplotu inkubace s fluorescenčním substrátem 40 °C, není-li to teplota fyziologická? Podobně kultivační teplota 25°C místo optimálních 10°C?
6. **str. 34(U)**: Můžete, prosím, vysvětlit metodu „Principal component analysis“ a její použití při analýze enzymových aktivit?
7. **Str. 41(E)**: Proč je doba nasedání primeru u emulzní PCR prodloužena na 270 s?
8. **str. 41**: Jak dlouho trvá příprava vzorku pro pyrosekvencování? Ve kterých krocích lze přípravu přerušit? Jaká je maximální délka sekvenovaného úseku DNA?
9. **Na str. 44** uvádíte, že chimerní sekvence jsou zařazeny do sekundárního "CD hit". Můžete to vysvětlit?
10. **str. 46(J)**: Co je podstatou „Rarefaction and diversity analyses“?
11. **str. 47**: Podle jakého klíče jste vybrala 16 kmenů z 50 morfotypů získaných ze smrkových jehlic?
12. **str. 52(N)**: Na obr. 8 je uvedeno 12 grafů enzymových aktivit. Grafy a jejich popisy jsou příliš malé. Byla kultivace a měření zopakováno nebo výsledky pocházejí z 1 experimentu?
13. **str. 54(O)**: Jak lze definovat celkovou hydrolytickou aktivitu (co je 100%, jak lze aktivitu různých enzymů sčítat)?
14. **str. 60**: Můžete, prosím, vysvětlit graf č. 11? Proč mají osy odlišnou škálu?
15. **str. 63(S)**: Nerozumím závěrům o distribuci OTU. Jedná se o počty nebo označení skupiny?
16. **str. 78**: Jaký je rozdíl mezi analýzou netransformovaných a log transformovaných dat?
17. **str. 78**: Na svá data jste aplikovala různé statistické testy, abyste prokázala předpokládané rozdíly. Proč některé testy odhalí rozdíly mezi komunitami různých horizontů a jiné ne?
18. **str. 85**: Co znamená věta: „Cluster 7 has low bootstrap supports in both trees.“?
19. **str. 85 a 86 (E)** Jak si vysvětlujete rozdíly v kladogramech založených na polymorfismech nukleových kyselin a kladogramech odvozených z proteinových sekvencí?
20. **str. 88**-V Diskusi citujete tři práce autora Osono, které popisují postupné změny v zastoupení druhů při rozkladu rostlinného opadu. Je podle Vás relevantní, v jakém podnebném pásu byla studie provedena?
21. **str. 89 (L)**: Je podle Vás pokles poměru C/N při postupném rozkladu jehličí z 52 na 47 relevantní pro změnu v zastoupení druhů?
22. **str. 92**: Jak lze definovat hodnotu „Community evenness“? Autorku ji využívá až v Diskusi.

23. **str. 98** - Počet 26 saprotrofů a 22 ektomykorhizních druhů se vztahuje k souboru purifikovaných izolátů (podobně na str. 99)?

24. **V tabulce 1** v Dodatku uvádíte seznam rodů se zastoupením nad 20. Co tato hodnota znamená? Jak lze z hodnot HS, LS atd. odvodit relativní zastoupení v procentech?

Připomínky

Str. 23: Složení lignocellulózy nebylo odhaleno v roce 1993 nebo 1997, jak by odpovídalo Vašim citacím. Rovněž klasifikace celobiohydroláz nepochází z roku 2007.

Str. 28: Věta „*We speculate that sequence information from RNA polymerase II genes have the potential for resolving phylogenetic problems at several levels of the diverse and taxonomically very challenging genus Cortinarius.*“ je doslova opsána z Abstraktu citované práce Frosleva (2005).

Str. 29: two communities: nejsou definované v předchozím textu. Ve větě The goal was to identify... pravděpodobně chybí sloveso.

Str. 30(O) Není uveden odkaz, kde tabulku hledat. Z popisu není jasné, zda jste izolovala a charakterizovala 16 kmenů celkem nebo z každé skupiny.

str. 31(Q): Název kapitoly „**Extracellular enzyme assays measurements**“ je nesmyslný.

str. 34(V): Chybí údaj o typu centrifugy. Strídání hodnot v rpm a g je nestandardní. Není uvedena hmotnost biomasy pro izolaci DNA.

Str. 36(W): Objem EtBr neuvádíte v kontextu s objemem gelu.

str. 41(F): není uvedeno složení enhancing pufru, koncentrace ethanolu, izopropanolu a NaOH.

str. 49(M): Při měření rychlosti radiálního růstu uvádíte u některých vzorků 2 hodnoty. Co označuje 2. hodnota (nebo je to chyba formátování)?

V tabulce 8 na str. 79 není vysvětlena položka STAMP.

str. 81(C): Jsou hodnoty na str. 81 správně? Nemají to být procenta: 35% a 8% variability dat?

str. 83: Seznamy čeledí a rodů vykazující příslušnost k určitému horizontu by bylo vhodnější uvádět v tabulkách než formou odstavce.

str. 88- Názvy druhů by bylo vhodné uvádět plným jménem, pokud se objeví po delší době. Jako netaxonom nemohu odhadnout, o který rod se jedná. Ve druhé části Diskuse pak plná jména používáte.

str. 100 (T): není uvedena koncentrace kyseliny octové.

str. 102 – Proč není u substrátů pro kyselou fosfatázu a aminopeptidázy uvedena molární koncentrace jako u jiných substrátů?

Překlepy

str. 29 - the input cedes (nikoliv is cede), sampling sites, differ místo have differ

str. 32 - were homogenized

str. 38(Z): were replaced, **str. 38(A):** later

str. 84 (A) - chybí „to“

str.85 (B)- přebývá „are“

str. 86 (F) za předložkou in chybí slovo

str. 88(H): basidiomycetes, **str. 88(J)** : and

str. 94 (N) - in its occurrence

str. 95 (P) Picea

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

