

**Analýza druhové diversity mikromycet ve fytoplánu dubu letního *Quercus robur* infikovaného padlí dubovým *Erysiphe alphitoides* pomocí klasických a molekulárních metod.**

Rešeršní práci jsem nehodnotil už několik let a váhám, na co se mám soustředit. Snad na kontrolu správných teček a čárek v seznamu literatury, které jsou 4 stránky? Na první pohled je vidět, že formátování do bloku spolu s tečkami za všemi zkratkami je nevhodné, protože to nepřirozeně oddaluje zkratky jmen od sebe v některých řádcích, a že autor používá „hyphens“ a „dashes“ zcela libovolně. Na podrobnější analýzu jsem neměl sílu a doufám, že ani autor všechnu to literaturu nepřečetl.

Práce je psána celkem dobrou češtinou, až na nepochopitelné výpadky, jako hned na začátku, kde 3. věta opakuje 1. větu a vyjmenovává tytéž vlastnosti hub v jiném pádu. Hrozný je také překlad textu pod obrázkem 8. Hodně se používá slovo „diversita“ ve významu koexistence různých druhů; nebyla by nakonec česká „různorodost“ výstižnější? 13 obrázků vhodně ilustruje práci, ale skoro 40 nadpisů v 5ti různých kategoriích považuji za příliš na tak útlou práci; když se odstraní veškerý autorův výklad, zůstane stále ještě spis značného rozsahu.

Náplní práce je přehled metod analýzy druhové skladby houbových společenství na povrchu listů, se zvláštním důrazem na padlí dubové. Životní cyklus padlí je vysvětlen v jedné z úvodních kapitol; čekal jsem, že na konci bude nějaké zhodnocení, jak by mohla analýza mikrobiálních společenstev pomoci při potírání padlí nebo alespoň při jeho zkoumání, ale už se o něm nemluví. To považuji za nedostatek a zároveň je to má

první otázka: Existují nějaké práce dokazující, že určité společenství organismů podporuje infekci padlí nebo naopak? Že třeba v suchých oblastech jsou jiné mikroorganismy a proto je padlí nebezpečnější? Nebo alespoň, jestli jsou v různých oblastech různé druhy padlí? Apod.

V metodické části by bylo vhodné neuvádět některé triviální věci, jako třeba že agar netuhyne v kyselém pH (což navíc není pravda), že se klávuje při 121°C apod. Na výkladu izolace DNA je patrný nedostatek znalostí a praktické zkušenosti; detergent SDS je podstatný proto, že extrahuje DNA z rozdrčených tkání, tj. odděluje ji od buněčných komponent na ni vázaných (jinak by se chovala jako bílkovina a byla by následně sražena chloroformem) a ne že se používá k rozložení buněčných stěn. Není zmíněna častěji používaná extrakce CTAB na jiném principu, kdy DNA není „oholena“, ale naopak se na ni naváže silně hydrofobní detergent, který jí udělí vlastnosti vhodné pro další purifikaci.

Zbytečné je podrobné líčení, jak Nikolcheva s Barlocherem navrhli specifitější primery pro amplifikaci – s celostránkovou tabulkou která neposkytuje žádnou informaci. Stačilo říci, že byly navrženy tak, aby se ze směsi mikroorganismů amplifikovaly pouze houbové rDNA. Naopak není zmínka o tom, jaké sekvenční rozdíly se dají očekávat u různých, ale příbuzných druhů resp rodů. Pro analýzu je podstatné oddělení vnitrodruhové variability od mezidruhové a podobně na vyšší úrovni.

Druhá otázka: dělal jste nějakou rešerši v tomto smeru? U hub, které znám, přibližně platí, že mezi vzorky uvnitř druhu je maximálně 1 změna base v každé ze dvou ITS, mezi druhy 5-10 (15) a více než 20 obvykle znamená jiný rod. Ale prý to neplatí obecně a nějaká širší recherche v GenBank by byla velmi zajímavá.

Ve výkladu metod stanovení molekulární diversity je velmi podceňeno sekvenování DNA, které díky překotnému rozvoji v poslední době (masivně paralelní sekvenování) brzy převálcuje ostatní metody. Podle mého názoru, metody jako DGGE, T-RFLP, klonování měly být uvedeny jen jako historické a autor se měl více zaměřit na metagenomické přístupy a na využití nových sekvenačních metod.

Třetí otázka: Byla publikována nějaká metoda masivně paralelního sekvenování nikoli celých genomů, ale jen ribosomální DNA?

Přes tyto výtky, u nichž některé mohou být jen otázkou jiného názoru na věc, považuji rešerši za dobře a pečlivě zpracovanou a doporučuji bakalářskou práci k obhajobě.

