

# POSUDEK ZÁVĚRČNÉ PRÁCE

*Poličko lze zaškrtnout dvojím poklepáním levým tlačítkem myši*

Titul: Molekulární biologická analýza některých druhů hub z herbářových i nativních položek pro fylogenetickou specifikaci

Autor práce: Růžena Veselá

Autor posudku: Ing. Jiří Bárta, Ph.D.

1. Jsou v souladu titul a obsah práce se zadáním práce? .....  ano  ne
2. Nechybí v práci formulář *Zadání* ? .....  nechybí  chybí  
Nechybí v práci *Prohlášení* ? .....  nechybí  chybí  
Nechybí v práci *Obsah* ? .....  nechybí  chybí  
Nechybí v práci kapitola *Literatura*? .....  nechybí  chybí
3. Je členění práce logické a přehledné? .....  ano  ne zcela  ne
4. Je diskuse logická a s dobře zdůvodněnými závěry? .....  ano  ne zcela  ne
5. Je kapitola závěr jasně formulovaná? .....  ano  ne zcela  ne
6. Jsou správně citované zdroje informací v textu práce? .....  ano  ne zcela  ne
7. Je seznam použitých zdrojů informací bez chyb .....  ano  ne zcela  ne  
a úplný? .....  ano  ne zcela  ne
8. Je cizojazyčné resumé bez chyb? .....  ano  ne zcela  ne
9. Jsou všechny obrázky, tabulky a přílohy nezbytné? .....  ano  ne zcela  ne
10. Jsou všechny tabulky, obrázky a přílohy dostatečně kvalitní? .....  ano  ne zcela  ne
11. Je jazyk a gramatika práce bez chyb? .....  ano  ne zcela  ne
12. Jsou taxonomické pojmy bez chyb? .....  ano  ne zcela  ne
13. Doporučujete práci k obhajobě? .....  ano  ne
14. Doplňte hodnocení práce: .....  výborně  
 velmi dobře  
 dobře  
 nevyhovující

15. Do diskuse navrhuji otázku ve znění:

- Plně se ztotožňuji se závěry autorky, že DNA takto uskladněných hub je do značné míry degradovaná, což také mohlo vést k tomu, že PCR neproběhla úspěšně. Velice by mne zajímala koncentrace DNA u různých extrakčních postupů. Pokud tato data existují, mohla by je autorka uvést?
- Z popisu metodiky a výsledků také není jasné, u kterých izolátů hub se různé extrakční metody DNA testovaly. Předpokládám, že bylo asi nejprve vybráno několik izolátů, na kterých se metody vyzkoušely nebo se testovaly všechny houby uvedené v Tab. 1, kterých je 34?
- V textu k obrázku 15 je uvedeno, že herbářová houba *Antrodiella genistae* je podle fylogenetické analýzy nejvíce příbuzná *A. onychoides*. V obrázku ale herbářová houba *Antrodiella genistae* není uvedena. Z čeho tedy autorka odvozuje blízkou příbuznost?
- Dalším podle mého názoru zásadním problémem je kontaminace vzorků cizí DNA (plísně žijící na sbírkových kmenech). Z textu mi přišlo, že se tento problém snažila autorka odstranit tím, že vybrala jinou extrakční metodu. Tím ale kontaminaci bohužel odstranit nejde. Mohla by autorka uvést, jak by případnou kontaminaci odstranila?

***Nedílnou a povinnou součástí hodnocení kvalifikační práce je slovní vyjádření se k práci s podrobným uvedením připomínek a zdůvodněním navrhovaného hodnocení na samostatném listě nebo zadní straně tohoto formuláře.***

Práce Růženy Veselé se zabývá velmi důležitou tématikou, kterou je revize stávajících druhů hub uložených v herbářových sbírkách pomocí izolace DNA a následné fylogenetické analýzy. Práce je logicky členěna s velmi podrobným úvodem a metodami. Úvodní část je velice podrobná (13 stran) a popisuje každý krok při práci s odebranými druhy hub (tj. od správného odběru po izolaci DNA, sekvenaci a následnou fylogenetickou analýzu). Výsledky a diskuse už jsou oproti úvodu o poznání kratší, souvisí to ale logicky s tím, že u mnoha sbírkových kmenů se nepodařilo buď úspěšně izolovat DNA nebo PCR neproběhla podle očekávání. I to však patří k nedílné součásti vědeckého bádání a i negativní výsledek je výsledek.

Nejprve bych se zaměřil na formální část práce, ve které jsem našel několik větších i menších chyb:

- Na straně 4 je text "Zadání bp" bez dalšího textu. Nevím, jaká jsou pravidla zadávání na Západočeské univerzitě, ale přijde mi, že na stránce něco chybí. Je tomu tak?
- Na straně 7 je u zkratky mRNA uvedeno, že se jedná o zkratku pro mitochondriální RNA. Správně má být "mesengerová RNA", mitochondriální RNA má zkratku mtRNA.
- Nepřesné formulace "...houby se používají k výrobě kvasnic.". Houby jsou kvasinky.
- Nejednotný formát citací. Hned na první straně je použito trojí formátování citací: číslo; autor rok, autor a kol. rok. V úvodu se střídají kapitoly, kde jsou citace formou čísel s kapitolami, kde je citace formou (autor, rok). Citace uvedené formou čísel nejsou dohledatelné, protože seznam literatury je seřazen abecedně podle příjmení prvního autora.
- Na str. 26 je nadpis 2.3.4, ale chybí k němu text. Hned totiž navazuje kapitola 2.3.5. Neměl být nadpis 2.3.4 nadpisem 2.3.3?
- Chybí mi tabulka, kde by bylo uvedeno, kolik a jak kvalitní byla DNA izolovaná různou metodou. V metodice chybí, jak byla např. koncentrace stanovena (spekrofotometricky, fluorescenčně)? To by mělo být pro rozhodování o tom, která extrakční metoda je nejlepší zásadní. Dále by bylo třeba i doplnit data o obrázky gelů izolovaných DNA. Ta mohou napovědět, zda se podařilo izolovat DNA o dlouhých fragmentech nebo zda už není DNA po dlouhodobém uskladnění degradovaná (což je u takto dlouhodobě uskladněných vzorků při 22°C velice pravděpodobné).

Závěrem bych chtěl říci, že práce Růženy Veselé nebyla z praktického hlediska snadná a obdivuji snahu získat DNA i ze vzorků hub starých téměř 40 let. Oceňuji, že autorka otestovala více extrakčních metod a nespolehala se jen na jednu. Autorka správně uvádí, že metody založené na sekvenaci specifických úseků DNA (např. ITS oblast) mohou poskytnout velmi přesné taxonomické zařazení houbových kmenů, které byly dříve určeny pouze na základě morfologických znaků. Na druhou stranu je ale třeba brát v úvahu degradaci DNA během manipulace a uskladnění hub, což autorka správně diskutuje a samozřejmě i osídlení takto uskladněných hub jinými houbami, které následně kontaminují původní DNA nebo dokonce jejich DNA může v extraktu dominovat. Musím také pochválit velice podrobnou rešerši, kterou autorka vypracovala a která má na bakalářskou práci úctyhodných 13 stran.

I přes uvedené výtky obsahové a formální si myslím, že práce přinesla na pracoviště důležité poznatky a inspiraci pro budoucí pokusy. Práci Růženy Veselé doporučuji k obhajobě a uděluji známku **velmi dobře**.

Datum: 5.6.2017

Podpis: 