

POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Autor: Bc. Tereza Geigerová

Název: Diverzita a taxonomie rodu *Steccherinum* v České republice

Afiliace: PŘF UK, studijní program Biologie, studijní obor Botanika

Oponent: RNDr. Jan Borovička, Ph.D., GIÚ a ÚJF AV ČR

Předmět studia

Cíle práce byly v úvodu jasně vymezeny: autorka se zabývá rozšířením a taxonomií druhů rodu ostnateček (*Steccherinum*) na území ČR. Byly použity jak metody klasické taxonomie, tedy morfologická charakteristika makroskopických i mikroskopických znaků, tak metody molekulární, tedy sekvenace DNA. Autorka se detailněji zaměřila na problematický druh *Steccherinum ochraceum*.

Stručné shrnutí

Studium je založeno z převážné části na studiu herbářových položek (BRNM, PC, PRM a herbář J. Kouta); jen menší část materiálu (9 položek) byla získána v průběhu terénních exkurzí. Množství materiálu, na kterém je práce primárně založena, je dostačující. Zvolená metodika je pro řešení stanovených cílů vhodná. Výsledky jsou přehledně a jasně prezentovány a jejich interpretace se opírá o podrobně zpracovanou rešeršní část (více než 150 odkazů). Práce obsahuje zanedbatelné množství překlepů, jazykově i slohově je na velmi slušné úrovni. Dále je třeba vyzdvihnout komplexní přístup k problematice a to, že zjištěné výsledky mohou být cenným podkladem pro přípravu kvalitní vědecké publikace.

Problémy a rozšiřující otázky k práci

1/ V DP je BASIONYM uváděn pouze jako jméno s autorskými zkratkami, např. „*Hydnum ciliolatum* Berk. & M. A. Curtis“, což považuji za nedostatečné. V taxonomických mykologických pracích je zvykem uvádět BASIONYM plnou citací, tj. s odkazem na literární zdroj, nyní i s unikátním číslem v databázi MycoBank podle vzoru: *Hydnum ciliolatum* Berk. & M. A. Curtis, Hooker's Journal of Botany and Kew Garden Miscellany 1: 235 (1849) [MB#201265]

2/ V práci je uveden a diskutován druh *Steccherinum subcrinale*. V kapitole 4.1.10 je uvedeno, že jedinou položku (a jediný známý nález) tohoto druhu z našeho území neměla autorka k dispozici (str. 55); na jiném místě (str. 31) autorka zmiňuje, že se položka nachází v herbáři PRM (číslo není uvedeno). Není jasné, kdy a kdo houbu našel a identifikoval. Tento problém možná souvisí s tím, že distribuce jednotlivých druhů u nás, prezentovaná v práci v kapitole Výsledky, je založena na základě 164 položek (str. 31). Autorka však revidovala jen 72 položek (Příloha 1). Navíc byly použity kolekce z PRM, u nichž dle autorky *nebyla revize potřebná* (str. 31 a 71). Nenalezl jsem vysvětlení, proč revize nebyla potřebná, ani seznam takto použitých položek.

3/ U druhu *Steccherinum fimbriatum* autorka narazila na rozpor ve velikosti výtrusů v práci Cunninghama (1959), který je uvádí nejen delší (jak si povšimla autorka), ale i širší, tedy celkově větší. Podle autorky může být tato variabilita způsobena geografickou polohou – položky, u nichž byly spory měřeny, byly sbírány na Novém Zélandu. Existuje nějaká práce, která by dokumentovala, že novozélandské houby mají větší výtrusy než houby z jiných částí světa, anebo se nabízejí i nějaká další vysvětlení tohoto rozporu?

4/ Druhy rodu *Steccherinum* mají inkrustované pseudocystidy. Mohl by druh nebo charakter inkrustace pomoci při druhové rozlišování těchto hub? Má např. morfologie krystalů známých z plodnic nebo rhizomorf bazidiomycetů taxonomický význam? Bylo by možné identifikovat látky tvořící tyto inkrustace? Pokud ano, jakými metodami?

5/ Autorka uvádí poměrně malou úspěšnost průběhu amplifikace, z 62 proběhla PCR úspěšně jen u 23 (st. 56). Čím vším může být tato relativně nízká úspěšnost způsobena? Ve výčtu používaných primerů jsou uvedeny jen ITS1F, ITS4 a NL4. S jakým primerem byl používán v páru primer NL4? Takto to vypadá, že ITS i LSU byly amplifikovány společně, což by představovalo značnou délku amplifikovaného řetězce. Proč nebyl např. využit samostatný forward primer (jako NL1) pro amplifikaci LSU? Nebo primer ITS4B pro amplifikaci ITS s následným využitím semi-nested PCR s párem ITS1F-ITS4?

6/ Jaké další metody nebo postupy by bylo možné využít při studiu druhu (popř. druhového komplexu) *Steccherinum ochraceum*? Na str. 19, 23 a 65 se autorka dotýká problematiky „konceptu druhu“, molekulární rozdíly zjištěné u *Steccherinum ochraceum* v Závěru přisuzuje „vnitrodruhové variabilitě“. Bylo by možné a vhodné pro další studium využít i jiné molekulární markery nebo jiné metody umožňující lépe podpořit taxonomické závěry?

7/ Zajímavý problém je u druhu *Steccherinum rhois*, který je mnohými specialisty považován za konspecifický se *Steccherinum ochraceum*. Autorka uvádí rozdíly v makro- i mikromorfologii a zajímavou vazbu na *Corylus* (i když jen na malém vzorku nálezů). To by, stejně jako výsledky párovacích testů (Saliba a David 1988), svědčilo proti konspecifičnosti obou taxonů.

V abstraktu DP je uvedeno, že se na základě fylogenetické analýzy se nepodařilo separovat druh *S. rhois* jako samostatný. Získána přitom byla sekvence z jediné kolekce (sběr JK04), prakticky shodná se sekvencemi *Steccherinum ochraceum*. V diskusi ale autorka uvádí, že je pravděpodobné, že došlo ke kontaminaci vzorku jinou sekvencí a (odvozeno na základě morfologických odlišností) opravdu se jedná o samostatný druh. V případě kontaminace vzorku (nikoliv sekvencí, ale zřejmě tDNA) by se ovšem nepodařilo *S. rhois* separovat nikoliv na základě fylogenetické analýzy, ale na základě toho, že nebyla získána a použita jeho skutečná sekvence!

Totožné ITS sekvence jsou však u morfologicky a ekologicky rozdílných bazidiomycetů známy, např. u druhů *Cortinarius ionochlorus* a *Cortinarius atrovirens*. Byla extrakce DNA z položky JK04 provedena opakovaně, aby bylo jisté, že nedošlo ke kontaminaci? Plánuje autorka terénní sběr na známých lokalitách tohoto druhu s cílem získat nový materiál? Díky specifické ekologii taxonu a sběratelům (kteří jsou doposud naživu a jistě také plní ochoty sdělit podrobnosti o místě nálezů) by měla být velká šance houbu nalézt a problém konečně vyřešit.

Drobné problémy a doplnění

1/ Autorka používá poněkud neobvyklý výraz *čtyřsporické* bazidie. Vhodnější by bylo použít výraz *tetrasporické* (autorka jej zná a používá ho na str. 31, 48 a 53) anebo *čtyřvýtrusé*. Každopádně je třeba terminologii držet jednotnou, tedy i (byť domněle) nevhodný výraz používat důsledně v celé práci.

2/ Citace „Bálint et al. (2010)“ má správně být „Dima et al. (2010)“; Bálint je křestní jméno.

3/ V roce 2014 vyšla práce shrnující výzkum biodiverzity hub na plochách s různým typem lesnického hospodaření. V seznamu nálezů jsou uvedeny některé druhy rodu *Steccherinum*. Zdroj: Hofmeister et al. (2014), Richness of ancient forest plant species indicates suitable habitats for macrofungi. *Biodiversity and Conservation* 23 (8): 2015-2031. Autorka o něm jen stěží mohla vědět – uvádím jej jako doplnění a další informační zdroj. Při dalším studiu rodu *Steccherinum* by mohlo být přínosem rozšířit navštívené herbáře o BRNU, CB a HR.

4/ Uvádět rozměry inkrustovaných částí pseudocystid s přesností na desetiny mikrometru, tedy např. (49,3–)64,9–82,6–(100,3) μm , je nesmyslné – tady je třeba zaokrouhlovat.

5/ Kromě drobných překlepů na několika místech práce jsem si všiml chybějících jednotek mm a μm u některých udávaných rozměrů (str. 41, 42 aj.).

6/ Přehled sekvenovaných položek v kapitole 4.2 je prezentován nepřehledně v textu – měl by být v tabulce i např. s informací o délce získaných řetězců jednotlivých úseků DNA, když sekvence zatím nebyly zaslány do veřejné databáze a nemají číslo.

7/ Dokumentace jednotlivých druhů fotograficky (makro a mikroznaky) na obrázcích (např. Obr. 16) je žádoucí a zdařilá. Naneštěstí není uvedeno, k jakým herbářovým položkám se tato dokumentace vztahuje, což snižuje informační hodnotu této dokumentace.

8/ U obrázků 23, 24 a 27 by mělo být uvedeno, na základě jakých molekulárních markerů byla analýza provedena (takto je nutné to obtížně hledat v textu).

Závěr

Přes výše uvedené připomínky splňuje diplomová práce Bc. Terezy Geigerové všechny předpoklady k úspěšné obhajobě, ke které ji vřele doporučuji a navrhuji stupeň hodnocení 1-2 (stupeň VÝBORNĚ při úspěšné prezentaci a uspokojivé diskusi uvedených připomínek). Předložená diplomová práce také představuje slibný soubor dat k dalšímu zpracování a doplnění, jehož výsledkem by mohla být vědecká monografická práce o taxonomii a ekologii rodu *Steccherinum* na území České republiky.

V Praze dne 27. srpna 2015

RNDr. Jan Borovička, Ph.D.