

POSUDOK DIPLOMOVEJ PRÁCE

Autor: Bc. Jan Matouš

Názov: Systematika rodu *Ramariopsis* (Basidiomycota, Clavariaceae) ve střední Evropě

Afiliácia: PŘF UK, studijní program Botanika, studijní obor Botanika - Mykologie

Oponent: Mgr. Viktor Kučera, Ph.D., BÚ CBRB SAV, Bratislava

Predmet štúdia:

Ciele práce boli v úvode jasne definované, autor sa zaoberá rodom *Ramariopsis* v strednej Európe, konfrontuje rôzne taxonomické koncepcie s výsledkami vlastného štúdia, komentuje a vysvetľuje prípadné nezrovnalosti. Pomocou molekulárnej štúdie sa tiež venuje zisťovaniu prípadnej skrytej diverzity. Použité boli metódy ako klasickej taxonómie – makro a mikro morfológická charakteristika jednotlivých znakov, tak aj molekulárne metódy a metóda skenovacej elektrónovej mikroskopie. Autor správne vyzdvihol a identifikoval problémy pri jednotlivých študovaných taxónoch a v mnohých prípadoch navrhol možné riešenia.

Stručné zhrnutie:

Práca je založená na štúdiu vlastných zberov a zberov z herbárových položiek pochádzajúcich z verejných (PRM, PRC, BRA) a súkromných zbierok. DNA sekvencie pochádzajú z tohoto materiálu a boli doplnené o ďalšie sekvencie z verejných databáz. Množstvo materiálu na ktorom je práca primárne založená je dostatočné a získané vyhodnocované dáta sú vo výbornej kvalite. Zvolený metodický aparát bol veľmi vhodný na štúdium tak komplikovaného rodu akým *Ramariopsis* bez pochyb je. Výsledky sú prezentované rozsiahlo, opisy jednotlivých taxónov sú veľmi dobre spracované a doplnené poznámkami rôzneho druhu, diskusia sa opiera o poznatky obsiahnuté vo viac než 70 citovaných prácach. Fotodokumentácia a ilustrácie sú výstižné. Celá problematika je v závere veľmi dobre zhrnutá a prináša komplexný pohľad s poukázaním na prípady skrytej diverzity a vyzdvihnutím dvoch taxónov, ktoré sa v práci prezentujú ako pravdepodobné prvonálezy z Českej a Slovenskej republiky. Práca predstavuje základ pre monografické spracovanie rodu *Ramariopsis* a jej časti môžu byť spracované do samostatných publikácií (viď článok Matouš a kol. v *Czech Mycol*).

Problémy a rozširujúce otázky k práci:

Ramariopsis kunzei var. *bispora* – keďže bola na území strednej Európy autorom potvrdená z dvoch zberov (viď str. 29), prečo v práci chýba jej podrobný opis tak ako tomu je pri ostatných taxónoch? Chýba mi údaj podľa akej literatúry bola huba určená. Autor diskutuje na viacerých miestach v práci *R. kunzei* var. *bispora* ale nie je jasné, či znaky pozoroval sám na vlastnom materiáli alebo sa opiera o literárne dáta. Autor v práci spochybnil preradenie na druhovú úroveň (Olariaga & Salcedo 2013) na základe pozície sekvencie svojho zberu v strome. A čo mikroznaky? Olariaga & Salcedo 2013 definujú taxón podľa môjho názoru dostatočne, autor ale nediskutuje všetky znaky, ktoré použili Olariaga & Salcedo (2013). (okrem chýbajúcich praciek a bisporických bazídií je to prítomnosť bi-pyramidálnych kryštálov prípadne hrúbka hýf bazálneho tomenta). Nemohli by teda autorom študované zbery predstavovať „len“ bisporické formy *Ramariopsis kunzei*?

Ramariopsis klad 1 BRACR19567 je podľa autora asi kryptický druh (s.27), ale v ITS strome je síce v inom klade ale blízko *R. kunzei* a *R. robusta* a zrejme aj s nízkou podporou bootstrapu. Dá sa určite vylúčiť, že by (aj po pridaní ďalších sekvencií) prípadne mohol predstavovať neznámu variabilitu niektorého z týchto druhov?

Prítomnosť kryštálov považujú autori za znak hodný zaznamenania, Olariaga rozlišuje dokonca tri typy kryštálov, nie je autorovi podozrivé, že žiadne kryštály nezaznamenal? (str.84). Predpokladám, že bol pozorovaný ako živý tak aj suchý materiál, nemohlo sa stať, že niektoré použité mikroskopovacie médium kryštály rozpustilo? Čo si autor myslí o využití hodnoty pH substrátu pri určovaní húb z tohoto rodu?

Hodnoty mikroznakov sú pri tomto rode významným determináčnym znakom. Skúsil porovnať autor hodnoty namerané na čerstvom a suchom materiále? Ak áno, bol zistený nejaký rozdiel? Nedochádza vplyvom sušenia ku zmenám tvaru výtrusov? (konstrikcia v strede a pod.?)

Ako si autor vysvetľuje absenciu sekvencií LSU u *R.* klad 4, keď získal šesť dobrých sekvencií ITS (s. 67). Prítom ITS sa u Clavariaceae získava oveľa ťažšie než LSU (Kautmanova in verb.)

Na s.17 sa spomína dlhodobá zlá kvalita získaných sekvencií... bola rovnako zlá u oboch génov? Bol niektorý zo spomínaných polymerázových mixov lepší ako ostatné? Aká bola úspešnosť pri získavaní dobrých sekvencií v %? Čiže koľko bolo treba urobiť PCR reakcií, kým sa získalo v práci uvádzaných 57 a 36 použiteľných sekvencií?

Skúšal autor využiť aj iné molekulárne markery (RPB2, TEF, ...)? S akým výsledkom?

Ramariopsis klad 3 – na viacerých miestach v práci (str. 54 dole, 55) sa o tomto klade hovorí ako o druhu. Je to preklep alebo má autor argumenty podporujúce druhový status tohoto kladu?

Prečo nebol študovaný *R. subarctica*? Podľa článku Vašutová et al. 2013 existujú recentné zbery tejto huby.

Prečo nebol študovaný materiál zo sezóny 2015 a 2016?

Čím sa líši *R. crocea* forma *conspicua* opísaná z Ameriky od *R. crocea* z Európy?

Rastú na nejakej lokalite spolu *R. kunzei* a *R. robusta*?

Drobné problémy a doplnenia:

Názov hovorí o rode *Ramariopsis* v strednej Európe ale zbery použité v práci pochádzajú hlavne zo Českej a Slovenskej republiky, časť sekvencií stiahnutých z medzinárodnej databázy patrí zberom z USA, Nového Zélandu, Brazílie plus tu nájdeme aj zber z Fínska a Panamy. Stredná Európa je teda v práci poňatá buď veľmi úzko alebo naopak až príliš široko. Vyzdvihujem však autorovu snahu zasadiť problematiku rodu do širokého kontextu čo je veľmi účelné a viditeľné v poznámkách pri jednotlivých taxónoch.

Treba rozlišovať kryprické druhy, variabilitu a morfológicky dobre odlíšiteľné ale zatiaľ neopísané taxóny.

V opisoch farieb plodníc by bolo vhodné použiť farebné tabuľky, vo fylogenetických stromoch by mohli byť označené sekvencie z typových položiek.

V práci sa dotýkame takmer v každej kapitole problematiky typov. Jednoznačne odopručam autorovi v budúcnosti v tomto smere podniknúť ďalšie kroky, veľmi oceňujem opísanie nového druhu *R. robusta*.

Drobné chyby v citáciách a veľmi málo preklepov.

Popisky k obrázkom by mali obsahovať aj číslo položky, ktorá bola dokumentovaná. Napr. Fig. 16 kde sú plodnice *R. subtilis* zjavne makromorfologicky odlišné.

Vyjadrenia ku kozmopolitnému rozšíreniu niektorých taxónov sú dosť odvážne, ak autor berie do úvahy úroveň poznania jednotlivých taxónov, existenciu kryptických druhov a uvažuje o prebiehajúcej speciácii.

Tabuľka č.4 je veľmi prehľadná a dá sa chápať ako istá forma synoptického kľúča ale napriek tomu klasický dichotomický kľúč na určovanie druhov by bol možno vhodnejší.

Medzi literárnymi zdrojmi žiaľ nie je správne uvedený autorov článok v časopise Czech Mycology.

Záver:

Napriek vyššie uvedeným pripomienkam splňuje diplomová práca ktorú vypracoval Bc. Jan Matouš všetky predpoklady ku úspešnej obhajobe, ku ktorej ju odporúčam a navrhujem stupeň hodnotenia 1–2 (v závislosti od prezentácie a uspokojujúcej diskusie pripomienok). Predložená diplomová práca predstavuje výborný základ pre monografický prehľad o taxonómii rodu *Ramariopsis* v strednej Európe a je preukázateľným dokladom diplomantovej spôsobilosti a schopnosti prinášať nové poznatky a uplatňovať ich vo vedeckej praxi.

V Bratislave dňa 7. 9. 2017

Mgr. Viktor Kučera, Ph.D.