

**Jan Mareš: Combined morphological and molecular approach to the assessment of *Ulva* (Chlorophyta, Ulvophyceae) in the Czech Republic**

Předkládaná magisterská diplomová práce se zabývá podrobnou charakterizací vybraných zástupců rodu *Ulva* za použití kombinace morfologického a molekulárního přístupu, s důrazem na vzorky z České republiky. Práce má 72 stran (včetně 20 stran obrazových příloh) a je napsána v anglickém jazyce.

Práce řeší problematiku, která je v současné taxonomii řas a sinic obecně velice aktuální, a sice propojení tradičních morfologických přístupů s výsledky moderních molekulárních metod s cílem vyjasnit status jednotlivých taxonů, zejména na rodové a druhové, případně i nižší úrovni. Studie tohoto typu pokládám jednoznačně za velmi přínosné. Vyjasnění identifikace taxonomických jednotek a revize klasifikačního systému tak, aby co nejlépe odrážel fylogenetické vztahy, jsou nezbytným základem pro jakékoli další studie. Samotná předkládaná diplomová práce demonstuje značně nepřehlednou situaci v rodě *Ulva* / *Enteromorpha*. Cílem práce bylo identifikovat vybrané populace r. *Ulva* z České republiky pomocí morfologických a molekulárních metod, srovnat je se vzorky z dalších evropských lokalit a formulovat obecnější závěry k morfologické a genetické variabilitě uvnitř rodu, zejména s ohledem na druh *U. flexuosa*.

Práce je dobře promyšlena, přehledně a čtivě napsaný úvod poskytuje základní vhled do problematiky a dostupných literárních pramenů. Autor úspěšně zvládl všechny potřebné metodické přístupy (klasická morfologie, molekulární metody včetně zpracování sekvencí a několik různých fylogenetických analýz). Studované vzorky r. *Ulva* jsou všechny zevrubně morfologicky charakterizovány a opatřeny fotografickou dokumentací, což poskytuje kvalitní základ pro potenciální další studie. Je třeba ocenit časově náročné snahy o optimalizaci molekulárních metod, zejména extrakce DNA. Cenné je i to, že autor získal a do své diplomové práce zahrnul také vzorky z jiných částí Evropy od dalších autorů z oficiálních i soukromých herbářů. Dále bych chtěla vyzdvihnout použití dvou úseků genomu (ITS, rbcL gen) a snahu o syntézu a diskusi výsledků jak jejich jednotlivých analýz, tak souhrnné fylogenetické analýzy. Všechny zmíněné skutečnosti zvyšují výpovědní hodnotu práce. Analýza různých poddruhů *U. flexuosa*, definovaných na základě odlišné morfologie, ukázala zjevnou monofyletičnost tohoto druhu a jeho vymezení vůči dalším druhům rodu. Ukázalo se, že většina vzorků r. *Ulva* (všechny vzorky odebrané v rámci diplomové práce) na území České republiky patří k druhu *U. flexuosa*, a ne k často, a spíše ze setrvačnosti, uváděné *U. intestinalis*. Srovnáním s historickými vzorky se podařilo prokázat, že *U. flexuosa* se na našem území vyskytovala i v minulosti, což popírá hypotézu o recentní invazi tohoto druhu do ČR. Práce dále přináší cenné poznatky také k rozšíření a ekologii některých poddruhů *U. flexuosa*.

Po formální stránce je předložená diplomová práce připravena pečlivě, se všemi potřebnými náležitostmi. K věcnému obsahu nemám výhrady, pouze bych měla na autora několik otázek, připomínek, resp. námětů do diskuse.

- 1) Autor v diskusi zmiňuje, že všechny taxonomicky významné morfologické znaky nemusí být vždy dobře vyvinuty a že ke spolehlivému morfologickému popisu by bylo

zapotřebí vidět všechna stádia životního cyklu. Nabízí se využití kultivace kmenů a jejich sledování v čase, příp. v kontrolovaných laboratorních podmínkách. Podařilo se r. *Ulva* někdy převést do kultury, existují sbírkové kmeny? Má autor sám zkušenosti s kultivací r. *Ulva*?

- 2) Jak moc může fixáž, příp. vysušení ovlivnit tvar buněk a další morfologické znaky? Pokud ano, bylo by vhodné u morfologických charakteristik jednotlivých vzorků uvést, v jakém stavu byl popisovaný materiál (nativní /fixovaný /vysušený/ trvalý preparát).
- 3) Jak velký vliv mohou mít úpravy sekvencí (odstraňování úseků s gapy apod.), které předchází samotným fylogenetickým analýzám, na výsledky těchto analýz?
- 4) Není mi zcela jasné, na základě čeho byly vybrány vzorky k přesnějšímu morfologickému popisu v rámci práce (vedle vzorků odebraných samotným autorem). Seznam použitých vzorků v tabulce č. 2 je rozsáhlejší, než kolik jich je popsáno v textu. Pokud u zbývajících vzorků existují podrobné morfologické popisy v jiných publikacích, bylo by vhodné uvést citace.
- 5) Pro přehlednost by bylo vhodné vytvořit srovnávací tabulku důležitých morfologických znaků popisovaných kmenů.

Dále mám několik drobných formálních připomínek:

Str. 7: Tab. 2 – byla by vhodná přesnější lokalizace odběrové lokality.

Str. 8: jednotné číslo nahradit množným – collection of fresh specimens

Str. 11 nahoře: 2x genomic

Str. 12: Samples U1-U14 and P2-4 – tyto kódy nejsou nikde vysvětleny

Str. 19: Dle čeho jsou vzorky seřazeny (v morfologickém popisu a v obrazových přílohách)?

Přehlednosti a rychlé orientaci v textu by prospělo jednotné řazení podle poddruhu.

Str. 19: cells are a little elongated

Str. 21: vzorek iv a v – rozměry buněk uvedeny v centimetrech

Str. 28: překlep v odkazu na tabulku (Table 1 nahradit Table 2)

Str. 47-48: Koeman & van den Hoek 1982a, b, 1984 – pořadová čísla taxonomických studií by měla být 1-3

Figure 3-5: Do legendy není třeba psát, jaké kmeny obsahuje který clade, to lze odečíst ze stromečku.

Předložená práce Jana Mareše patří rozhodně k velmi dobrým magisterským diplomovým pracím, pečlivě zpracovaným a s přínosnými závěry. Výsledky této práce poskytují dostatečný základ jak pro kvalitní publikační výstup, tak pro potenciální navazující studie.

***Na základě tohoto posudku a úspěšné obhajoby magisterské práce navrhuji její ohodnocení klasifikačním stupněm »VÝBORNĚ«.***

## Oponentský posudek na magisterskou práci studenta katedry botaniky Přírodovědecké fakulty JU v Českých Budějovicích

### Jan Mareš: Combined morphological and molecular approach to the assessment of *Ulva* (Chlorophyta, Ulvophyceae) in the Czech Republic

Magisterská práce J. Mareše vypracovaná na katedře botaniky Přírodovědecké fakulty JU v Českých Budějovicích řeší na 52 stranách textu s 19 obrazovými tabulemi v příloze problematiku taxonomie a výskytu zelené řasy rodu *Ulva* v českých zemích.

K řešení této problematiky byly využity kombinace klasických a moderních taxonomických metod.

Téma rodu *Ulva* ve vnitrozemských vodách (u nás jako druhy *Enteromorpha*, odděleného na základě morfologie stélek od rodu *Ulva* a nyní na základě molekulární genetiky opět do něho zařazeného) bylo důležité zpracovat i z historického materiálu. Z našeho území pocházejí nálezy rodu klasických představitelů algologie z jižní Moravy, kde bývala hojným druhem v první polovině 20. století, a to v různých mokřadech před regulací Dyje a výstavbou Novomlýnských nádrží, i v litorálu Lednických rybníků před jejich hypertrofizací intenzívním rybářským obhospodařováním. Na počátku 80. let se masívně rozšířila v mokřadech se zvýšenou mineralizací, což zřetelně souviselo se zvýšenou aplikací minerálních hnojiv do rybníků a splavováním ze zemědělské půdy i solením silnic, a byla označována jako invazivní druh. K této myšlence svádí i fakt, že těžiště výskytu rodu je v litorálu moří a brakických vodách. V současné době jsou nálezy opět spíše jednotlivé. Určení do druhů nebo nižších taxonomických jednotek od 19. stol. po dnešek přineslo řádku jmen a dodnes nebylo jasné, zda se v celé historii jedná o stejný organismus nebo více odlišných.

Ze všech těchto důvodů bylo vypracování předložené magisterské práce, v níž je kombinovaný přístup použit i při redeterminaci dostupných herbářových položek ze sběrů z 1. poloviny 20. století, ....

Vývoji taxonomie rodu *Enteromorpha/Ulva* se zdůrazněním problémů v determinaci (ať již nálezy pouze juvenilních stádií, nebo variabilita stélek při výskytu v různých ekologických podmínkách) se autor podrobně věnuje v kapitole 1.2. „Identification of species“. Na ni organicky navazuje kapitola 1.3. „*Ulva* in the Czech Republic“ přehledně shromažďující nálezy od konce 19. stol. až po dnešek včetně nepublikovaných údajů získaných od terénních badatelů (tab. na str. 7). V kapitole 1.4. „Objectives“ potom specifikuje cíl práce - výzkum taxonomické identity vybraných populací *Ulva* spp. v ČR kombinovaným přístupem na základě determinační literatury (morfologie a anatomie) a zvolené metody molekulární biologie ve vyjasnění (kombinace dvou DNA markerů).i srovnání s daty jiných algologů z různých oblastí světa.

K vlastním analýzám použil autor 6 vzorků odebraných osobně v terénu a 18 z jiných zdrojů včetně herbářových položek (tab. na str.10). Zmiňuje problémy při zpracování herbářových položek a fixovaného materiálu a jak se s nimi při determinaci vyrovnal (to se týká nejen poškození morfologické a anatomické stavby, ale i částí genomu DNA). . V kapitole 2. „Metody“ popisuje použité metody morfologie a anatomie a molekulárních analýz včetně vypracování fylogenetického stromu, kde se *U. flexuosa* objevila v samostatném cladu.sousedícím s cladem zahrnujícím *U. linza*, kdežto *U. intestinalis* je vzdálenější (oba tyto druhy byly klasickými algology přiděleny zkoumaným položkám). Morfologické studii jednotlivých vzorků je věnováno 10 stran textu s odkazem na 19 barevných obrazových tabulí s mikro- i makrofotografiemi materiálu.

V diskusi se podrobně věnuje příslušnosti jednotlivých nálezů ke stanoveným taxonům včetně problematických bodů, synonymice starších nálezů a ekologii, rovněž rodu *Ulva*

v širším geografickém kontextu. Diskutuje i téma invaze. Na rozdíl od jiných autorů došel kombinací klasických a moderních taxonomických metod k závěru, že nálezy rodu *Ulva* z našeho území i v době domnělé invaze přísluší k našemu původnímu taxonu, který se rozšiřuje na původních i sekundárních biotopech se zvýšenou mineralizací. Tento závěr považuji z mého hlediska muzejního algologa za jeden z největších kladů práce.

Práci hodnotím stupněm výborně a nemám k ní formální ani věcné připomínky.

Před opublikováním revize výskytu taxonů rodu *Ulva* v ČR v odborném periodiku doporučuji ověřit, zda se v dalších herbářích ČR vyskytují herbářové položky rodu *Ulva/Enteromorpha* a zpracovat je stejnými metodami (sběry z jižní a střední Moravy z 1. pol. 20. stol. by se mohly nacházet v herbářích botanického oddělení Moravského zemského muzea a Západo-moravském muzeu v Třebíči). Pro potřebu magisterské práce je zpracovaný soubor reprezentativní a postačující.

V Brně dne 21.1.2009

RNDr. Olga Skácelová, Ph.D.  
Moravské zemské muzeum, hydrobiologická laboratoř  
Zelný trh 6, 659 37 Brno