

**Oponentský posudek na diplomovou práci Soni Píšové na téma
„Zhodnocení vnitrodruhové variability *Sparganium erectum* s využitím morfometrie,
AFLP a průtokové cytometrie“**

Zhodnocení práce

Hlavním deklarovaným cílem práce, jak je definován na str. 6, bylo nalézt nejdůležitější morfologické znaky pro odlišení jednotlivých poddruhů v rámci druhu *Sparganium erectum* a jejich následné porovnání s výsledky molekulárních metod pro lepší pochopení variability. Postup prací a úvah však nakonec byl alespoň částečně spíše opačný, jak vyplývá mj. z explicitních formulací na str. 30 nebo 43, tedy že metoda AFLP byla (spolu s morfologickým „předurčením“ materiálu) použita jako základ pro definování hranic taxonů, a takto definované skupiny byly následně morfologicky analyzovány a testovány. Ačkoliv by toto mohlo být posuzováno jako odklon od stanovených cílů, reálně použitý postup byl metodicky správnější.

Popis metodiky je většinou dostačující a věcně správný (viz ale následující odstavec). Pro stanovené cíle byly zvoleny vhodné metodické přístupy. Při zpracovávání literatury a stanovení morfologických znaků pro analýzy však byla překvapivě opomínuta stěžejní Čelakovského práce (Čelakovský L. J., Über die ramosen Sparganien Böhmens, Österr. Bot. Z. 46: 421–433, Tab. VIII, 1896), zabývající se variabilitou tohoto druhu u nás. V Metodice je také uvedeno, že rostliny byly sušeny a herbářovány, ale chybí zmínka, kde jsou herbářové doklady uloženy (což je významná informace).

V některých případech je však popis metodiky nepřesný nebo nedostatečný. Tak např. hned v úvodu při popisu sběru vzorků (str. 26) je uvedeno, že bylo „celkem navštíveno 63 lokalit“, ale také je zmíněno, že ne na všech lokalitách byly rostliny druhu *Sparganium erectum* nalezeny. Chybí mi zde informace, na kolika lokalitách tedy studovaný druh byl nalezen a sbírán k analýzám. Dále je uvedeno, že „ke standardním sběrům bylo ještě připočteno cca 30 rostlin“ – co jsou standardní sběry? Odběry jsou popisovány jako „5 vzorků pro každou populaci“, ale není přesně uvedeno, jestli je zde pod pojmem „vzorek“ míněna jedna rostlina, jedna samičí hlávka nebo jeden plod (čtenář se to dozví spíše náhodou až na str. 30).

Mezi výstupy autorčina studia je velké množství dat a interpretací. Slabou stránkou celé diplomové práce je však způsob jejich prezentace. V textu jsou časté těžkopádné, vágní nebo zcela nejasné formulace (např. str. 8: „plody mohou být šířeny vodním pohybem přivozeným gravitací“, str. 16: plody vzniklé „následkem přidělení zdrojů“, str. 26: „Ale přesto některé údaje okolo 10 let staré již nebyly platné.“, str. 39: „populace subsp. *neglectum*, která je díky své částečné sterilitě členěna podle morfologie do subsp. *oocarpum*“ – jak může být populace členěna do subspecie?), terminologicky chybné a nejasné výrazy (např. str. 7: „listy ploché až do tvaru V“, str. 11: „vaječníky“ – rostliny nemají vaječníky, str. 31: „okvětí na konci rozšířené s výčnělkem), překlepy, podivná slovní spojení (str. 10: „nevhodné plevle“ – jaký plevel je vhodný?), nepřesná pojmenování popisovaných objektů a jevů (např. místo „neurčené lokality“ má na str. 27 být „*S. erectum* neurčené do subspecie“), atd. Někdy jsou kostrbatá vyjádření způsobená snahou o doslovný překlad textů zahraničních prací. Celá práce je prošípaná množstvím nepřesných a matoucích formulací, což někdy znesnadňuje

pochopení textu a autorčina záměru, takže se nejedná jen o nějaký „kosmetický problém“. Text tak bohužel působí dojmem, že byl psán na poslední chvíli a bez následného přečtení.

Kromě formulačních a gramatických problémů se objevují i věcné nedostatky:

V dendogramu na str. 40 chybí označení vzorků. Není tak možné detailně hodnotit výsledky a porovnávat dendogram s diskusí.

V Tab. 1 v seznamu lokalit postrádám informaci o tom, jaká subspecie druhu *Sparganium erectum* byla na které lokalitě sbírána. V mapě na obr. 3 jsou tyto taxony odlišeny různými symboly, ale ve většině případů zase není možné zjistit, kterou lokalitu který symbol znázorňuje. Na str. 53 je uvedeno, že na základě AFLP „byla určena příslušnost jedinců z těchto čtyř skupin k jednotlivým poddruhům“. Tím spíše je škoda, že tato příslušnost není v tabulce uvedena.

Již od str. 40 se v diskusích porovnávají výsledky morfologických analýz s výsledky AFLP (a např. už na str. 44 je hodnocena korelace určení mezi oběma přístupy), vlastní výsledky AFLP jsou však prezentovány teprve od str. 53 dále. Čtenář tak musí pochopení diskuse odkládat stále na pozdější dobu a pak se znovu vracet k předchozím diskusím, což je velmi nepraktické a matoucí. V některých partiích textu jsem si proto ani nebyl jistý, jestli pojednáváné taxony (skupiny rostlin, analyzované vzorky) byly definovány morfologicky nebo genomicky. Vhodnější by bylo nejdříve prezentovat výsledky a pak je teprve diskutovat.

Mezi prezentovanými primárními daty mi poněkud chybí obrazové přílohy, které jsou velmi žádoucí, pokud se analyzují tvary a jejich variabilita. V práci by bylo vhodné ukázat alespoň fotografie plodů, které jsou v textu považovány za „typické“ pro jednotlivé subspecie, a ty, které jsou označovány za „přechodné“.

Drobnější poznámky technického rázu

V popisu celkového rozšíření druhu na str. 11 byl opominut výskyt v Asii.

Chyba při překladu anglického „stands“: věta má znít, že druh „vytváří rozsáhlé porosty“, nikoliv „vytváří rozsáhlá stanoviště“ (str. 12).

Opravdu je celková sušina včetně podzemních orgánů 2500g/m² „extrémně vysoká hodnota pro součást přírodního společenstva v temperátní zóně“ (str. 12)? Jakou hondotu by asi měla celková sušina v lese?

Co je „uhlazená“ horní část plodu (str. 13)?

„Domin“ je celé příjmení, nikoliv zkratka, nepíše se proto s tečkou na konci (chybně na str. 4, 14, 16, 60). Naopak „var.“ je zkratka pro latinské slovo „varietas“, a proto se píše s tečkou (bez tečky na str. 14 a 15); obdobě také „et al.“ je zkratka pro „et alii“ (bez tečky např. na str. 21).

Str. 27–29: Má smysl uvádět zeměpisné souřadnice s přesností na tisícinu zeměpisné vteřiny, když to odpovídá přibližně 30–50 cm v terénu, přičemž této přesnosti nelze dosáhnout ani pomocí GPS (běžná chyba měření je okolo 10–15 m) ani odečtem z elektronické mapy?

V Tab. 31 chybí uvedení jednotek měření. Předpokládám, že veškeré hodnoty kvantitativních znaků na plodech budou v milimetrech, ale boxploty uvedené od str. 88 dále ukazují pro tyto znaky hodnoty na osách x až kolem 60, což vylučuje, že by se jednalo o milimetry.

V češtině se užívá desetinná čárka, nikoliv desetinná tečka (chybně např. v Tab. 4–7).

V seznamu literatury není žádný systém. Navíc zde chybí některé práce citované v textu, např. Čelakovský 1899, Neumann 1897, Stace 1975.

Nejvýznamnější výsledky práce

Následující výsledky autorčiny práce považuji za nejvýznamnější:

- 1) Při použití průtokové cytometrie lze rozlišit 3 skupiny odpovídající (1) subsp. *erectum*, (2) subsp. *oocarpum*, a (3) skupině zahrnující zbývající subspecie *microcarpum* a *neglectum*. Toto zjištění umožňuje na lokalitách se společným výskytem subsp. *erectum* a subsp. *oocarpum* bezpečné odlišení všech rostlin i ve vegetativním stavu.
- 2) Byl potvrzen význam morfologie plodů pro odlišování taxonů. Při morfometrické analýze však byla potvrzena již dříve opakovaně pozorovaná obtížnost odlišení subsp. *microcarpum* a subsp. *neglectum*.
- 3) Metoda AFLP dobře odlišuje všechny subspecie včetně subspecií *microcarpum* a *neglectum*. Zvláště subsp. *erectum* a *microcarpum* jsou vzájemně dobře diferencované taxony s minimální příměsí genetické informace jiného poddruhu. Subsp. *neglectum* však naopak sdílí část genetické informace se subsp. *microcarpum*. Sdílení částí genomu bylo zjištěno také u subsp. *oocarpum*, u které se předpokládá hybridní původ.
- 4) I přes ne zcela dostatečnou morfologickou vyhraněnost subsp. *microcarpum* a subsp. *neglectum* byla na základě analýzy metodou AFLP potvrzena taxonomická oprávněnost jejich hodnocení jako samostatných taxonů.

Závěrečné stručné zhodnocení

Největším kladem práce je zahrnutí širokého spektra metod. V metodice práce a interpretaci zjištěných dat jsem našel převážně jen méně významné chyby, opomenutí a nesrovnalosti. Množství zpracovávaného materiálu a dat je adekvátní časovému horizontu, který byl k dispozici. Základní cíle práce deklarované v úvodu byly splněny. Mezi výsledky jsou i nová významná zjištění. Závěrečné zpracování výsledků a jejich prezentace v diplomové práci však místy výrazně pokulhávají, a obsahují i závažné nedostatky.

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnotit klasifikačním stupněm: velmi dobře.

Otázky k obhajobě práce

- 1) V prvním odstavci na str. 9 je popisováno, že druh vytváří pomocí oddenků rozsáhlé porosty, ale „přesto tu lze nalézt neočekávanou míru morfologické variability způsobenou vlivem okolního prostředí“. Jak je to myšleno? Pokud se někde vyskytuje porost zevarů, jsou

podmínky prostředí na této lokalitě relativně uniformní, a morfologická variabilita (fenotypová plasticita) je naopak spíše malá.

2) Některé morfologické struktury popisované v textu jsem u *Sparganium erectum* nikdy neviděl. Jak vypadají stolony (str. 9) u *Sparganium erectum*? Jak se liší od oddenků? Opravdu vytváří *Sparganium erectum* cibule (str. 12)?

3) Pro druh *Sparganium natans* je uvedeno, že „rozvíjí květy v juvenilní fázi“. Soudil bych, že pokud rostlina kvete, tak už není v juvenilní fázi. Může to být vysvětleno?

4) Mnohá pozorování týkající se konkurenčních vztahů a sukcese (str. 12) je evidentně převzata ze zahraniční literatury, přičemž však není citován zdroj a hlavně území, kterého se uvedená pozorování týkají? Je možné automaticky vztáhnout ekologickou charakteristiku rostlin z jiných území na rostliny a podmínky v ČR?

5) Jak se ještě před zahájením morfometrické analýzy zjišťuje, co je „morfologicky typický jedinec“, který má být do analýz zahrnut (str. 18)? S tím souvisí i druhá otázka:

6) Na str. 26 je uvedeno, že „první rok byl zaměřen pouze na typické populace jednotlivých poddruhů“. Jak autorka zjistila, které lokality hostí typické populace?

7) Byly lokality za účelem odběru vzorků navštěvovány opakovaně nebo jen jednou? Pokud opakovaně, bylo by frekvencí návštěv možné nějak upřesnit?

8) Na str. 30 v metodice morfometrických analýz je uvedeno, že „pro zjištění, které znaky jsou pro odlišení skupin (poddruhů) nejdůležitější, se vytvořila základní skupina 50 jedinců obsahujících jen typické rostliny dobře reprezentující jednotlivé poddruhy“. To tedy znamená, že byly vybrány typické rostliny, které mají nějaké typické stavy znaků, a pak bylo zjišťováno, jaké mají tyto typické rostliny znaky. Není to tak trochu bloudění v kruhu?

9) Pro morfometrická měření bylo „vybíráno“ 5 plodů z každé rostliny (str. 30). Jak probíhal tento výběr? Byly některé plody vyloučeny z výběru?

10) Ze 14 znaků kódovaných jako binární (str. 31) má nejméně 11 spojitou variabilitu. Kvantitativní znaky tak byly kódovány jako kvalitativní, čímž získávají stavy těchto znaků mnohem vyšší váhu, než jim náleží, což negativně ovlivňuje výsledky analýz. Ve studovaném materiálu se to týká 1/3–1/2 znaků. Nebylo by vhodnější buď tyto znaky kódovat jinak, případně z analýz vypustit?

11) Očekával bych, že jedním z výstupů hodnocení variability pro taxonomické účely bude revidovaný klíč k určování subspecií nebo alespoň prakticky použitelný návod se zdůrazněním nejvýznamnějších znaků a jejich hodnot. Prezentované výsledky kanonické analýzy nestačí, protože např. za druhý nejlepší znak k odlišení subspecií *microcarpum* a *neglectum* je považována šířka plodu (korelační koeficient 0,425889), jenže celé variační rozpětí tohoto znaku u subsp. *neglectum* se vejde do variačního rozpětí subsp. *microcarpum* (jak vyplývá z boxplotu na str. 91), takže pro praktické určování subspecií je tento znak zcela nepoužitelný. Jaké jsou tedy reálně použitelné determinační znaky pro odlišení subspecií *microcarpum* a *neglectum*?

12) Chybí mi podrobnější komentář k identitě a morfologii jedinců označovaných v textu jako „přechodné“. Může se k tomu autorka vyjádřit při obhajobě?

13) Jsou už nějaké výsledky hybridizačních experimentů z této sezóny?

V Průhonicích dne 17. září 2009

Mgr. Zdeněk Kaplan, Ph.D.
Botanický ústav AV ČR, v. v. i.
Zámek 1
252 43 Průhonice