

Průhonice 17.1.2007

**Oponentský posudek magisterské diplomové práce Jiřího Košnara.
Taxonomická studie okruhu *Tortula muralis* (Pottiaceae) ve střední Evropě**

Předkládaná práce pojednává z komplexního biosystematického hlediska okruh *Tortula muralis* (kroucenec zední) – pohled morfometrický a cytometrický, zhodnocení kultivačního pokusu a pojednání o ekologii zahrnutých druhů.

Práce je přehledně strukturována dle hlavních tématických celků, psána stručným, výstižným a poměrně čtivým jazykem s minimálním množstvím stylistických či gramatických chyb. Velmi zdařilé jsou obrazové tabule v příloze 2, které názorně dokreslují všechny studované taxony s jejich nejdůležitějšími morfologickými znaky. Úctyhodná je i geografická rozrůzněnost studovaného materiálu, neboť do studie byly zahrnuty položky ze západní, střední i východní Evropy a ze střední Asie.

Nyní podrobněji k jednotlivým kapitolám (resp. metodickým přístupům):

Morfometrika

Před vlastní analýzou byly všechny dostupné položky na základě jistých morfologických znaků rozděleny do 6. skupin (z nichž 4 představují rozeznávané taxony a 2 skupiny pak zahrnují rostliny přechodné), které pak byly výchozím klasifikačním modelem pro diskriminační analýzy. Proti tomuto postupu, při absenci jiného nezávislého „markeru“, nelze nic namítat, nicméně je třeba mít tento fakt neustále na zřeteli a použité znaky do diskriminačních analýz nezahrnovat. U některých dílčích analýz však není explicitně uvedeno, které znaky byly vyloučeny a které použity. Tento fakt navíc komplikuje nepřehledné vymezení vlastních skupin, kde by byla účelnější jednoduchá tabulka s uvedením znaků které dané skupiny nejlépe charakterizují.

Do vlastních analýz bylo zahrnuto celkem 46 znaků a 65 herbářových položek, které byly považovány za populaci. Z každé této populace byly měřeny 3 rostliny. Otázkou zůstává zda by nebylo vhodnější u početnějších „populací“ zahrnout více jedinců a pokusit se tak postihnout a v analýzách zohlednit i variabilitu vnitropopulační. K tomu přispívá i fakt, že sám autor u některých znaků pozoroval v rámci jedné populace velkou variabilitu.

Analýza morfometrických dat byla omezena na 2 ordinační metody, na analýzu hlavních komponent (PCA) a lineární diskriminační analýzu (LDA) a hlavní pozornost autora směřovala k vzájemnému porovnání některých problematicky vymezených skupin. Problematické je v tomto ohledu nakládání s přechodnými skupinami. Například při srovnávání taxonů *Tortula obtusifolia* a *Tortula muralis* var. *aestiva* byla autorem z diskriminační analýzy vyloučena přechodná skupina mezi oběma typy (označovaná jako *muralis* var. *aestiva* – *obtusifolia*). Právě zahrnutí této skupiny do analýzy by ukázalo je-li mezi oběma skupinami skutečné kontinuum jak autor víceméně postuluje v závěru. Případně by bylo přinejmenším užitečné učinit pokus o klasifikaci jedinců (či populací) z této přechodné skupiny na základě diskriminační funkce získané při srovnání vyhraněných taxonů.

Navíc v práci postrádám porovnání obou variet nominálního druhu *Tortula muralis*, zvláště jsou-li obě tyto variety odlišeny dle délky vybíhání žebra listu na základě arbitrárního autorova rozhodnutí. I zde by bylo vhodné zohlednit druhou nevyhraněnou skupinu zahrnující rostliny (resp. populace) s přechodným stavem tohoto znaku (skupina označovaná jako *muralis-aestiva*).

Kultivační experiment

Jednoduchý kultivační experiment byl založen na regeneraci herbářových položek na jednotném substrátu a zpětném porovnání vzniklých rostlin s původní herbářovou položkou. Pro vlastní kultivaci by bylo vhodné použití několika typů substrátů s různou nutriční

hodnotou (nejen použitý drcený vápenec), tak aby bylo možné porovnávat environmentální vlivy na zkoumané znaky.

Průtoková cytometrie

Tato část práce byla zaměřena na stanovení obsahu jaderné DNA s použitím propidium jodidu (minoritně i DAPI) jako fluorescenčního barviva. Jako interního standardu byla použita *Glycine max*. Vzhledem k prokázané vnitrodruhové variabilitě u sóji je ale nutné uvádět i použitý kultivar (v tomto případě se jednalo o cv. 'Polanka') a publikovanou hodnotu obsahu DNA v pg i s citací (zde se jednalo o 2.5 pg). Oba tyto údaje v práci chybí. Autor práce si velmi dobře uvědomuje, že jakákoliv interpretace cytometrických dat bez znalosti přesného počtu chromozómů je velmi obtížná (zvláště pak při nižší rozlišovací schopnosti kvůli vyšším CV). S tím ovšem poněkud kontrastuje uváděná přesnost na 3 desetinná místa, doplněná čtyř-místnou standardní odchylkou. Navíc je v textu poněkud neuváženě používán termín „velikost genomu“, který by bylo mnohem lepší nahradit termínem „obsah DNA“.

Ekologie taxonů

Tato stať je velmi dobře zpracována na základě autorova pozorování a nemám k ní připomínek.

Diskuse

První část shrnuje a diskutuje variabilitu morfologických znaků s ohledem na jejich použití při určování jednotlivých taxonů. Druhá část pak pojednává o statusu zahrnutých taxonů. Zde je nejvyšší pozornost věnována postavení *Tortula obtusifolia*, zejména ve vztahu k *Tortula muralis* var. *aestiva*. Zde se autor pouští na velmi tenký led, neboť na základě měření 9 položek druhu *T. obtusifolia* a 12 položek druhu *T. muralis* var. *aestiva* navrhuje jiné taxonomické pojetí. Vzhledem k tomu, že v celé práci uváděné taxonomické pojetí není doprovázeno autory jmen (či kombinátory), nemluvě o synonymice či jiných taxonomických pojetích, není vůbec jasné, zda toto autorovo pojetí je zcela nové či od někoho převzaté. Není mi známo, zda-li existují k daným taxonům nějaký originální materiál (např. typová položka), nicméně bylo by velmi vhodné tento materiál před vynesemím nového taxonomického náhledu bedlivě prozkoumat a nejlépe zahrnout do analýz.

Osobně bych v diskusi uvítal i hypotézy o existenci přechodných typů mezi některými taxony a neexistenci těchto typů mezi taxony jinými.

Závěrem lze říci, že předkládaná práce splňuje kritéria diplomové práce a doporučuji ji k obhajobě.

Návrh hodnocení: velmi dobře

Otázky:

- 1) Jak by dopadly diskriminační analýzy při zohlednění ploidie zahrnutých populací? Pokud tento test nelze pro nedostatek materiálu provést, tak by mne zajímal autorův subjektivní názor.
- 2) Co je známo o hybridizaci mechů? Nemohou být ony přechodné rostliny produktem hybridizace?
- 3) U morfologicky vyhraněného druhu *T. lingulata* jsou cytometricky potvrzení pouze diploidní jedinci – je známo něco o jejich původu (allo- vs. autodiploidie)?
- 4) Budou-li přechodné rostliny analyzovány spolu s vyhraněnými typy jejichž znaky sdílí, dojde k jejich morfologickému odlišení? Co se stane budou-li tyto rostliny klasifikovány dle získaných klasifikačních funkcí z analýzy „čistých“ rostlin?


Pavel Trávníček

Oponentský posudek na magisterskou práci Jiřího Košnara Taxonomická studie okruhu *Tortula muralis* (Pottiaceae) ve střední Evropě

Předložená práce si klade za cíl detailní popis morfologické variability ve velmi komplikovaném agregátu *Tortula muralis*. Mimo to se pokouší pomocí kultivačního experimentu ověřit stálost vybraných znaků za kultivačních podmínek. Významnou částí práce je studium ploidního stupně a velikosti genomu u četných populací agregátu. Práce je standardně členěna. Na 46 stranách textu a téměř 30 stranách příloh prezentuje obsáhlý soubor dat, který je bezesporu významným krokem k poznání málo prozkoumané skupiny.

Velmi oceňuji soubor získaných morfometrických dat. Nepochybuji o tom, že naměření všech těchto údajů bylo časově velice náročné. Rovněž se mi líbí kultivační experiment, který v bryologii zřejmě není zcela obvyklým jevem. Sympatické je i použití průtokové cytometrie, které je u nás jedním z prvních pokusů o využití této metody u mechorostů, i když vzhledem ke známé cytologické proměnlivosti agregátu nemohla v tomto prvním kroku přinést jednoznačné závěry. Přes tyto klady mám ale k práci několik závažnějších připomínek.

Výběr studovaných populací.

Chápu obtíže s výběrem vhodných položek s dostatkem reprezentativních diakritických znaků, rovněž jsem si dobře vědom časové náročnosti měření. Avšak přesto se domnívám, že celkový počet zkoumaných populací je nízký. Podle mého názoru by stálo za úvahu omezit počet měřených znaků (je jich opravdu hodně a zřejmě mnohé z nich jsou korelované) a ušetřené síly vrhnout na další populace. Jistě by to přispělo i k robustnosti použitých statistických metod, které v některých případech byly limitovány velkým počtem znaků a malým počtem objektů. Dále se domnívám, že mohl být výběr položek zahrnutých do analýzy reprezentativnější. Zejména geografický záběr populací *T. muralis* s. str. je ve srovnání s ostatními taxony zbytečně malý. Práce sice v názvu nese střední Evropu, ale vzhledem k tomu, že se zabývala i populacemi z Islandu, Kazachstánu, Arménie atd., domnívám se, že měly být zahrnuty u nejhojnějšího (a také nejproměnlivějšího) druhu další populace mimo střední Evropu. Zaujalo mne také, že podle webové databáze mechorostů je v ČR *T. obtusifolia* udávána a doložena z Českého krasu. Proč není tato položka zahrnuta do analýzy nebo proč není tato skutečnost alespoň zmíněna?

Statistické zpracování

Tato část je zpracována velmi důkladně, působí však poněkud nepromyšleně. Není jasné, proč některé analýzy provedeny byly, a naopak je zarážející, proč některé jiné a žádoucí provedeny nebyly. Je pochopitelné, že autor nemohl předpokládat nějaké zcela jednoznačné výsledky. Nelíbí se mi ale, že k celému problému přistoupil jako k „morfometrickým manévřům“, které mají pouze podepřít „nakoukané“ věci. Dobře vím, že je takovýto postup běžný, a do jisté míry jej považuji i za legitimní, zaráží mne však, že se Jirka nenechal vyvést z míry ani poněkud odlišnými výsledky PCA a prosazoval svou představu i v dalších analýzách. To je dobře patrné z interpretace výsledku PCA na obr. 1. Nemohu se zbavit dojmu, že autor popisuje zcela odlišný obrázek než je prezentován. Podle mého názoru jsou z obrázku zřetelné v prostoru prvních dvou ordinačních os 3 nebo 4 skupiny, které však nejsou zcela totožné se skupinami, které vymezil autor. V žádném případě nelze hovořit o tom, že je „nápadné oddělení shluku položek *T. lingulata* ...“ a „zbývající položky tvoří podél první osy spíše kontinuum“. Mohl by autor vysvětlit proč interpretuje výsledek PCA tímto způsobem? Osobně bych totiž za tohoto výsledku PCA provedl diskriminační analýzu na celém souboru položek a „taxony“ bych vymezil podle shluků patrných z ordinačního diagramu. Ptal bych se, zda se náhodou neodlišují jinými znaky než které považuji za nejdůležitější v subjektivním hodnocení.

V diskriminační analýze skupiny *T. lingulata* – *T. obtusifolia* autor obhájí zařazení většiny znaků do diskriminační analýzy tím, že určení položek bylo postaveno na kombinaci několika znaků. Obávám se však, že se v této analýze přiblížil k důkazu kruhem již příliš. Nezkoušel autor provést LDA se zařazením sporné položky 4 k taxonu *T. lingulata*? Pak by zřejmě nevyšel tak významný znak velikost spor, ale naopak by mohly být podpořeny některé tradiční znaky. Nemůže velikost spor korelovat s ploidii?

Mnohem více se mi líbí LDA skupiny *T. lingulata* a *T. muralis* var. *aestiva*, kde byl z analýzy vyloučen zásadní diakritický znak použitý pro odlišení obou typů. To, že přechodné rostliny stojí blíže, mne na rozdíl od autora nepřekvapuje. Není mi moc jasné, proč byly provedeny 2 PCA analýzy (s nejvýznamnějšími znaky a bez nich) za účelem hledání dalších významných znaků. K tomu má sloužit mnohem lépe právě diskriminační analýza.

Vzhledem k tomu, že měl autor u mnohých položek k dispozici údaje o ploidii, považuji za velkou škodu, že neprovedl diskriminační analýzu, která by zkoumala znaky svázané s tímto parametrem. Možná stálo za úvahu zkoumat touto metodou i položky *T. obtusifolia* z výrazně odlišných biotopů (hory – nížiny). Pokud to dobře chápu, nebyly rostliny *T. montenegrina* zařazeny do analýz, protože na položce nebyl dostatečný počet plodných rostlin. To je dobrý důvod, avšak dávám k úvaze, zda nebylo možné provést klasifikační diskriminační analýzu a tu použít ke klasifikaci jednotlivých rostlin z isotypu *T. montenegrina*.

Drobnější připomínky

Formální zpracování je vcelku pečlivé, překlepů není mnoho, řadu drobných nedůsledností lze nalézt v seznamu literatury. Určité nelogičnosti jsou v textu na několika místech. Vyjadřování autora často klade značné nároky na soustředěnost čtenáře.

• Úvod

Jako nezasvěcenému mi schází krátká zmínka o akceptovaném členění rodu (alespoň na našem území).

Za poněkud nejasnou považuji část popisující variabilitu agregátu. Nejdříve autor tvrdí, že do agregátu *T. muralis* je zahrnováno nejčastěji 5 taxonů. V následujícím textu uvádí, že akceptovány jsou zpravidla jen 4. Ovšem dále se zdá, že částečně akceptuje nejasnou *T. montenegrina* (výskyt *T. lingulata* v Albánii) a pouze uvádí, že někteří autoři považují tyto dva typy za totožné. Navíc se v kapitole o druhu *T. muralis* s. str. čtenář dozví, že jen u druhu *T. muralis* bylo popsáno 25 vnitrodruhových taxonů. Mohl by se k tomu autor vyjádřit? Byly tyto taxony popsány mimo Evropu? Je jisté, že nemají žádnou hodnotu? Na základě jakých znaků byly popsány apod.? Proč nebyla *T. montenegrina* věnována větší pozornost? Není tento taxon zastoupen v herbářiích? A proč je v metodice uvedeno, že u tohoto typu bylo měřeno 15 spor na tobolku, zatímco u jiných taxonů jen 3 spory? Proč nejsou tyto údaje nikde prezentovány? V textu k jednotlivým taxonům mi také schází některé informace. Není jasné, odkud jsou taxony popsány a nezlobil bych se, kdyby byla uvedena řádná citace jejich jmen. Nomenklatorické informace také scházejí v části Status jednotlivých taxonů.

• Metodika

Popis měřených znaků je dosti složitý, nepříliš zasvěcenému čtenáři by ulehčil obrázek s vyznačením míst měření.

V metodice ke kultivačnímu experimentu se píše, že kultivace probíhala i u druhu *T. lingulata*. Ve výsledcích o tom však není ani zmínka. Proč?

• Výsledky

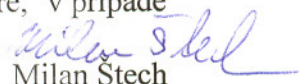
V části věnované ekologii *T. obtusifolia* jsou zmiňovány 2 zkoumané slovenské lokality. V seznamu lokalit je však jen jedna z nich. Proč?

• Přílohy

Za zdařilou považuji obrazovou přílohu, jen mi v ní schází obrázek obústí u *T. muralis* var. *aestiva*. V seznamu lokalit mne mírně pobuřuje míchání českého názvu země s anglickým, německým či latinským popisem lokality. Také skákání z Čech až do Arménie a hned zase zpátky nepovažuji za zdařilé.

Závěr

Předložená práce splňuje požadavky kladené na magisterskou práci a přes výše uvedené připomínky ji doporučuji k obhajobě. Navrhuji hodnocení stupněm velmi dobře, v případě mimořádně zdařilé obhajoby i výborně.


Milan Štech