

Posudek magisterské diplomové práce: **Pavel Kúr: A cytological, morphometric, and ecological study of *Spergularia echinosperma* in the Czech Republic and its comparison with a closely similar species *S. rubra*.**

Magisterská diplomová práce Pavla Kúra je podána formou 27-stránkového anglicky psaného rukopisu, připraveného k zaslání k recenznímu řízení v odborném časopisu. To je samo o sobě nadstandardní tvůrčí počín autora, svědčící o ambici nejen úspěšně zakončit magisterské studium, ale vytvořit si i dobrý odrazový můstek do studia doktorandského. Cílem práce bylo přispět k objasnění taxonomické problematiky dvou morfologicky velmi podobných a dosud problematicky vymezených druhů kuřinek, široce rozšířeného a poměrně hojného druhu *Spergularia rubra*, a vzácného středoevropského druhu *S. echinosperma* s přihlédnutím k možnosti potenciální hybridizace. Použitý přístup zahrnoval širokou škálu metod od solidně provedené morfometrické analýzy přes cytometrický screening po klíčící experiment, takže závěry mají bezpochyby vysokou výpovědní hodnotu a věřím, že se výsledky podaří v blízké době publikovat. Rovněž bych rád podtrhnul široký záběr literární rešerše, která musela být k tématu provedena, zejména to, že autor nezavrhnul starší a neanglicky psané práce.

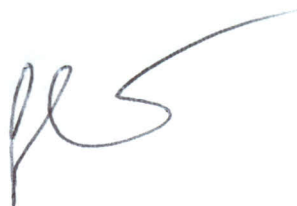
Můj celkový dojem z rukopisu (nyní ovšem z pohledu potenciálního recenzenta!) je takový, že je – pokud by měl být takto publikován – poněkud dlouhý, s místy rozplývající se logickou strukturou (na vině tohoto pocitu je asi z velké části diskuse, která má mnohdy spíše charakter literární rešerše) a zatím trpí i poměrně početnými jazykovými prohrěšky, což místy způsobuje i obtížnější srozumitelnost textu. To jsou ovšem velmi obvyklé neduhy velké části podávaných rukopisů a věřím, že autor na druhý pokus napíše diskusi elegantněji. Několik konkrétních připomínek a diskusních otázek:

1. Z druhého odstavce úvodu by jsem myslel mělo jednoznačně vyplývat, proč se autor rozhodl zabývat se dvojicí druhů *S. echinosperma* a *S. rubra*, úvod odstavce totiž čtenáři vnukne nezodpovězenou otázku, proč se autor nezabýval i ostatními 3 středoevropskými druhy. „South-West Bohemian pond areas“ sugeruje zase čtenáři podle mého názoru neexistující geografickou oblast (o rybníční oblasti se myslím hovoří pouze jihočeské, případně třeba třeboňské, blatenské...)
2. Pokud údaj existuje, bylo by zajímavé uvést, na jak velkém vzorku provedli Dvořák & Dadáková cytologický screening *S. echinosperma* a *S. rubra* (str. 2 1. odst.) vzhledem k odlišnosti výsledků autora a neúspěchu klasického počítání.
3. Provedení experimentu na klíčení jako doplňkového údaje v kontextu taxonomické práce je jsem myslel poměrně nezvyklé a zasloužilo by si komentář. Jak autor vnímá možnosti taxonomického přínosu takové studie (zejména pokud byl cíl formulován tak, jak je uvedeno v bodu 3 cílů)? Přestože jsem osobně velkým zastáncem využití ekologických dat v taxonomických pracích, zde organické propojení obou částí poněkud postrádám, což je ale dáno spíš použitým výběrem populací pro experiment na klíčení
4. Metodika: Měly by být uvedeny údaje týkající se holotypu *S. ×kurkae*, alespoň v rozsahu údajů k ostatním populacím (Appendix). Zdůvodnění neměření květních charakteristik (str. 4, met. morfometrie) mi přijde nedostatečné. Z Tabulky 1 sice nevyplývá, že by tyto charakteristiky měly zásadní význam, avšak např. přínos k odlišení cytotypů *S. echinosperma* bylo nemožné předem odhadnout. V čase oddělené měření květních a plodových charakteristik by sice bylo logisticky obtížnější než jednorázový sběr dat, avšak ne nemožné. Popis charakteristik *papillae shape* a *papillae density* není jednoznačný, vhodný by byl náskok. Proč byly všechny hodnoty $PapRat < 1$ položeny = 1 (domnívám se, že tak došlo ke snížení rozlišovací hodnoty tohoto znaku)?
5. V prvním odstavci FC-výsledků se hovoří o celkem 14 populacích, což se zdá být v rozporu s metodikou (27 populací). Odchylné populace v tabulkách 3 a 4 by měly být popsány jednotně (např. *S. echinosperma* 4x *Veselsky*, *S. rubra* *Luznice*).

6. V úvodu metodiky je zmiňována „morfologicky odchylná“ populace *Cakov*, která však není graficky odlišena a popsána na Obr. 3 ani v doprovodném textu. Je možné ji zvýraznit a okomentovat?
7. V diskusi morfologické variability autor teoretizuje o správnosti dřívějších Dvořákových úvah o hybridizaci, introgresi, a příslušnosti k jednotlivým cytotypům. Nebylo možné si Dvořákem studované položky jednoduše vyžádat k revizi (pokud ne, asi bych to zmínil v metodice)? Zmínka o fo. *longipes* se objevuje v diskusi na str. 20 poprvé a nečekaně – pokud chce autor diskutovat infraspecifické taxony *S. rubra* a nevylučuje jejich taxonomickou opodstatněnost, měl by tak učinit již v úvodu. Způsob využití kvantitativních dat při konstrukci klíče se mi nezdá být nejlepší – spíše než stanovení arbitrární hranice (u které navíc nevíme, jak byla konstruována) bývá ilustrativnější uvádět rozmezí typických hodnot (ať už za typické s příslušným odůvodněním považujeme třeba směrodatnou odchylku, hodnoty mezi 1. a 4. kvartilem nebo třeba 5. a 95. percentilem). Velmi vhodná by myslím byla ilustrace diakritických znaků
8. Zjevně chyběl čas na editaci seznamu literatury – není sjednoceno psaní zkratk časopisů, psaní teček za zkratkami, (ne)uvádění čísla v rámci ročníku (běžně se neuvádí), kapitalizace, často chybí kurzíva, abecední pořadí není vždy dodrženo, zůstala řada překlepů.

Celkově se přes výše uvedené připomínky jedná o velmi hodnotnou práci, která beze zbytku splňuje požadavky kladné na magisterské diplomové práce na Katedře botaniky PřF JU a hodnotím ji **výborně**.

V Českých Budějovicích, 19.1.2010, Jan Kučera



Kúr P. (2010): A cytological, morphometric, and ecological study of *Spergularia echinosperma* in the Czech Republic and its comparison with a closely similar species *S. rubra* – diplomová práce

Předkládaná práce si klade za cíl zhodnotit cytotypovou a morfologickou variabilitu druhů *S. echinosperma* a *S. rubra* a zhodnotit jejich rozdíly v ekologii klíčení. Práce je dle vžitých zvyklostí psána ve formě odborného článku, stručnou byť místy až příliš strohou formou v anglickém jazyce, bez zásadních stylistických či jiných závad.

K práci mám následující připomínky:

Materiál a metody

Sběr materiálu

- 1) Jedním z cílů práce bylo zhodnocení „komplexní cytotypové variability druhu *S. echinosperma*“ (str. 3) nicméně sběr rostlin byl proveden pouze na 14 lokalitách tohoto druhu a sám autor uznává, že tento cíl nebyl kvůli vzácnosti vhodných lokalit naplněn (str. 17) – otázkou zůstává zda autor udělal vše proto, aby tomu tak nebylo. Jinými slovy jaké procento recentních/dostupných lokalit bylo do studie zahrnuto? Jaký důvod byl k nenavštívení lokalit na J Moravě (Lednicko-Valtický areál), dalších lokalit ve Žďárských vrších (okolí Tří Studní) a případně dalších potenciálně vhodných stanovišť (Pardubicko)?
- 2) Je mi jasná snaha o vyrovnání počet populací pro účely morfometrických analýz (ačkoliv ani zde to není striktně vyžadováno neb většina statistických technik je dostatečně robustních) a tedy i omezený sběr druhu *S. rubra* v souladu s *S. echinosperma*. Co mi ovšem jasné není je to, proč i u hojně rozšířeného druhu je sběr materiálu omezen jen na relativně malé území J či JZ Čech? Nebylo by naopak pro účely postihnutí celé šíře možné variability druhu prosbírat jej z co možná nejdlejších částí jeho areálu či vymezeného území (což by dle názvu práce měla být celá ČR)?

Průtoková cytometrie

- 3) V metodice je popsáno, že pro účely zhodnocení relativní velikosti genomu bylo použito pouze analýz kdy píky standardu i měřené rostliny dosáhly počtu alespoň 400 jader (str. 4). Proč byla zvolena právě tato hodnota? Jde o hodnotu po „gatingu“ či před ním? Proč nebyla použito jiné kritérium hodnocení kvality FCM výstupů – např. standardně používané CV s prahovou hodnotou 3 nebo 5%?

Morfometrika

- 4) Z morfologických analýz byly vyloučeny znaky na květech neb jak autor uvádí v době kdy rostliny plodí již téměř žádné nekvetou (str. 4). Nicméně v souvislosti s velmi malým počtem zahrnutých populací (celkem 27) a jejich vzájemné blízkosti se jeví jako celkem snadno uskutečnitelné navštívit všechny populace 2x – tedy v době květu i plodu.
- 5) Před provedením mnohorozměrných statistik byla provedena korelace znaků a vyloučen byl vždy jeden z dvojice silně korelovaných. Opominu-li skutečnost, že teprve ve výsledcích se dozvídáme jaká byla použita prahová hodnota korelačního koeficientu, i tak se nabízí několik věcných připomínek. Tou je i výše prahové hodnoty 0,8 – v mnoha statistických výpočtech je tato hodnota nastavena mnohem benevolentněji (0,9-0,98) – proč zde bylo použito toto přísné kritérium? Proč bylo vyloučení znaků provedeno ještě před PCA, kterážto je vůči silně korelovaným znakům „imunní“?
- 6) Jedním z naprosto klíčových předpokladů diskriminačních analýz je apriorní vymezení skupin nějakou, nejlépe na morfologii zcela nezávislou, metodou. V celé práci se mi

nepodařilo najít přesný popis toho, jak byly skupiny vymezeny. Intuitivně se lze domnívat, že tak bylo učiněno na základě průtokové cytometrie.

- 7) Proč nebyl do analýz zahrnut „standardní“ znak vyjadřující tvar listu (délka/šířka listu)? Jak byla vymezena $\frac{1}{4}$ povrchu semen a jakým způsobem (lupa vs. mikroskop) byla počítána denzita papil?

Výsledky a diskuze

Cytotypová distribuce – poměrně rozsáhlá část diskuze je věnována problematice koeexistence diploidů a jejich polyploidních derivátů. Nicméně zjištěné distribuční pattern ukazuje, že tato problematika se studovaných druhů dotýká pouze okrajově (jen 2 smíšené lokality). Navíc je spekulován allopolyploidní původ tetraploidních rostlin *S. echinosperma*, což by samozřejmě zcela dramaticky mohlo změnit schopnost jejich koeexistence s diploidy. V textu je věnována velká pozornost i problematice opakovaného a recentního vzniku tetraploidů ačkoliv nic nenasvědčuje tomu, že by se něco podobného odehrávalo ve studovaných taxonech a je tak čistě teoretickou možností. Další takovou možností vysvětlující pozorovaný *status quo* je sekundární kontakt dávno vzniklých tetraploidů a jejich diploidních předků – tato možnost však v textu není zmíněna vůbec, ačkoliv se zdá minimálně stejně pravděpodobná. Je zjištěný nepoměr ve výskytu diploidních a tetraploidních populací *S. echinosperma* jen artefaktem chudého samplingu nebo odráží skutečný stav? Ví se něco o distribuci těchto cytotypů v okolních státech či v širším Evropském měřítku?

Velikost genomu – spekulace o allotetraploidním původu *S. echinosperma* je velmi zajímavá a na základě jednoduchého propočtu dle tabulky 4 i dosti pravděpodobná. Sečteme-li hodnotu 2C pro diploidní *S. echinosperma* (odpovídá neredukované gametě) a poloviční 2C hodnotu pro *S. rubra* (odpovídá klasické redukované gametě) dostaneme teoretickou velikost genomu 1.189 hypotetického tetraploida. Tato hodnota se liší pouze o 2.3% od skutečně zjištěné hodnoty pro tetraploidní *S. echinosperma*. Otázkou je proč tato poměrně snadná kalkulace byla autorem zamítnuta (str. 19), ačkoliv na podporu této teorie zřetelně hovoří i výsledky morfologie.

V závěru stati o velikosti genomu se autor pouští do „vyplňování děr“ v databázi velikostí genomu, kterážto je děr nebo mylných informací plná. Např. dosud zjištěná minimální velikost genomu pro *Fragaria viridis* je velmi pravděpodobně mylný údaj (díky obsahu taninů v č. *Rosaceae*), nehledě na to, že i tak byla tato hodnota nedávno překonána a rekordmanem v tomto směru je mezi krytosemennými *Genlisea margaretae* (*Lentibulariaceae*; ca 0,12 pg; Greilhuber et al. 2006).

Morfometrika – v této části je zvýšená pozornost věnována populaci Veselsky, jejíž výjimečnost je ale poměrně diskutabilní a může jít pouze o okraj variability *S. echinosperma* (viz Obr. 3A, Tab. 6). Mnohem zajímavější by mi přišlo zevrubnější srovnání tetraploidní *S. echinosperma* s hybridním taxonem *S. x kurkae*, kvůli spekulovanému v podstatě hybridnímu původu tetraploidů. Jaký je tedy vztah těchto dvou taxonů? Je-li skutečně *S. echinosperma* allotetraploid s podílem *S. rubra*, pak je *S. x kurkae* něco jako zpětný hybrid? Jaké jiné taxony by teoreticky připadaly v úvahu jako potenciální rodičovský druh tetraploidní *S. echinosperma*? Jaký metodický postup by autor navrhnul při ověřování hypotézy allotetraploidního původu *S. echinosperma*? A je vůbec správné řadit diploidní a tetraploidní zástupce *S. echinosperma* do jednoho druhu?

Formální připomínky:

Poprvé zmíněná rostlinná jména je vhodné uvádět s autory popisu či kombinátory ať je jasné jakou taxonomickou koncepcí autor upřednostňuje – tj. *S. rubra* (L.) J. et C. PRESL a *S. echinosperma* (ČELAK.) A. et GR., atd.

Pro stanovení ploidie pomocí průtokové cytometrie je vhodné používat termínu DNA-ploidie (dle Suda et al. 2006). Tím se zabrání i úsměvným tvrzením typu: tetraploidní stav byl potvrzen pro tetraploidní rostliny a diploidní pro diploidní (str. 7).

V morfometrické části by bylo vhodné předělat obrázek 3A, neboť v tomto trojrozměrném znázornění výsledků PCA se lze jen velmi těžko orientovat (stačilo by „přišpendlit“ body do roviny osy 1 a 2 a nebo lépe zvolit místo toho několik dvourozměrných výseků se zobrazením různých os tak, jak je tomu na obrázcích 3B a 3C)

Nejednotné citování literatury (uvádění vs. neuvádění čísel jednotlivých ročníků časopisů).

Minimálně ve verzi pro oponenty by měla být přítomna primární data k možnosti ověření některých výpočtů!

Celkově práci hodnotím jako zdařilou a inovativní v tom směru, že se zabývá problematikou dosud jen málo probádanou.

Práci doporučuji k obhajobě a prozatímně navrhuji její hodnocení stupněm velmi dobře, nicméně bude-li obhajoba excelentní, pak lze hodnocení vylepšit.


18.1. 2010