

Oponentský posudek na magisterskou práci Julie Jandové „Bionomie druhu *Dicranum viride*“.

Předložená magisterská práce se na 38 stranách textu a zhruba 10 stranách příloh zabývá mechorostem *Dicranum viride*. Téma je mimořádně atraktivní a pěkně spojuje problematiku taxonomickou a studium biologie vzácného a ohroženého druhu mechu. Širší zvolených metodických přístupů měla práce potenciál být mimořádně významným přínosem ke značně neúplným znalostem studovaného druhu. Nepochybuji také o tom, že objemem získaných dat tímto přínosem skutečně je. Avšak úporná snaha autorky ušetřit čtenáře veškerých zbytečných i méně zbytečných informací nebo je aspoň pečlivě ukryt na různá místa textu vedla k tomu, že potenciál získaných dat zůstává nenaplněn a práci k dokonalosti značný kus schází. Bohužel nejsem Sherlock Holmes, a tak jsem z poskytnutých indicií nebyl často schopen správně rekonstruovat průběh zločinu, respektive metodiku experimentů a analýz a ani výsledky mi nebyly zdaleka jasné. Případně neočekávané rozuzlení přišlo jako ve správné detektivce až na konci v diskusi. Určitá strohost práce se odráží i v absenci obrazové dokumentace. Vlastní text je jen s malým množstvím překlepů a chyb, přehled literatury by si však zasloužil pečlivější sjednocení.

Vzhledem ke stylu práce si dovoluji v dalším textu zahrnout autorku smršti dotazů k jednotlivým částem práce.

Úvod

Úvodní část je na můj vkus poněkud krátká a nepřilíš logicky členěná. Po úvodních informacích o epifytických a epilitických mechorostech slibují názvy dalších dílčích kapitol rozsáhlejší rešerši na téma populační dynamiky, ekologických nároků a rozmnožování těchto mechorostů. Ovšem autorka velmi rychle sklouzla k jedinému zkoumanému druhu a tak se čtenář příliš obecnějších informací nedozví. Naopak se jaksí v předstihu dozví o rozšíření a ochraně druhu *Dicranum viride*, který je jako studovaný druh popsán až v poslední části úvodu. Za největší nedostatek však považuji, že důvody ke zkoumání celé problematiky jsou uvedeny poněkud roztráštěně (v různých částech úvodu) a neúplně. Například je sice uvedeno, že *Dicranum viride* tvoří přechodné formy k *Dicranum fulvum*, ale již není popsáno, kterými konkrétními znaky se oba druhy liší. To například znamená, že mimo jiné schází zdůvodnění výběru znaků pro morfometrickou analýzu, která je jistě cennou částí práce, ale kupodivu není vůbec uvedena v konkrétních cílech.

Metodika

Ocenil bych celou řadu vysvětlení proč byl zvolen tento konkrétní postup či tento počet analýz. Poměrně zásadní by bylo vysvětlení, které rostliny byly považovány za typické a které za přechodné. Zajímalo by mne také, proč byla sekvenována od většiny chloroplastových úseků jen jedna rostlina od každého druhu, ale od spaceru trnM-trnV 7 rostlin *Dicranum fulvum*. Jaké rostliny byly sekvenovány? Byly to stejné rostliny pro všechny úseky?

Jistě by bylo vhodné uvést pravý důvod použití různých outgroupů ve dvou prováděných analýzách. Pravděpodobně jím není to, že v jedné analýze byly jen vlastní sekvence a v druhé sekvence získané z GenBanku.

V morfologické části bych ocenil uvedení konkrétních znaků, které byly pro účely diskriminační analýzy logaritmovány. Také úplně nechápu formulaci, že byly zařazeny pouze znaky s korelačním koeficientem menším než 0,9. Má to snad znamenat, že v případě vyšších korelací byly vyřazeny oba korelované znaky? Které znaky to byly? K pochopení měřených znaků by jistě pomohl obrázek s naznačením měřených veličin na různých buňkách i na celém listě. V tabulce znaků by neškodilo uvedení jednotek, ve kterých byly znaky měřeny.

V části věnované metodice populační dynamiky zcela postrádám detailní informace o poloze ploch, které nejsou uvedeny ani nikde v přílohách. V kontextu monitoringu Naturového druhu předpokládám, že plochy byly založeny jako plochy trvalé. Pevně věřím, že i když v práci schází jakýkoli odkaz, jsou detailní informace uloženy někde na AOPK. Ovšem zde měly být uvedeny alespoň zeměpisné souřadnice ploch. Z metodiky není jasné kolik mikrolokalit bylo na které studované lokalitě. Dopočítal jsem si to až z obrázku ve výsledcích. Rád bych slyšel důvod pro nerovnoměrné rozložení detailně sledovaných ploch mezi lokalitami. Proč například v Žofinském pralese, kde je největší populace, byla vybrána jediná plocha? Kdyby došlo na statistické testování změn, tak by nevyvážený design zbytečně vyhodnocení komplikoval. Určitě by nebylo na závadu uvést přesné datum založení a odečítání experimentu – alespoň v příloze. Také není uveden přístup k odhadování velikosti populací mechu mimo trvalé plochy. Chápu, že najít nějaký vhodný kompromis mezi požadovanou přesností a nutně přítomnou chybou odhadu je obtížné. Avšak odhady s přesností na desetiny cm² uvedené v tabulce 9 považuji za čistokrevné věštění z koule, které zcela postrádá smysl. Nedostatky v charakteristice lokalit jsou i v části popisující implantační experiment.

Výsledky

Molekulární data

Prezentaci výsledků sekvenace úseku ITS považuji za značně nejasnou. Pokud bylo analyzováno pouze 41 rostlin, neodvážil bych se mluvit o testování 41 populací. Chápu obtíže při sekvenování ITS úseku, ale z druhého odstavce kapitoly 3.1 jsem ani nepochopil, zda se podařilo tento úsek přečíst u všech 41 vzorků nebo v případě *D. viride* jen u několika zmiňovaných vzorků sekvenovaných z obou stran. Z diskuse tuším, že se nakonec jednalo pouze o 4 vzorky *Dicranum viride*. Ovšem nevím, které to byly. Z obrázků plyne, že dva z nich byly zřejmě vzorky z Terčina údolí a Libochovky, ale které byly ty další? A pokud se podařilo osekvenovat celý úsek jen u 4 vzorků, pak je dost odvážné tvrdit, že se na našem území a dvou švýcarských lokalitách vyskytuje pouze jeden haplotyp. Pokud toto tvrzení vychází pouze z částečné sekvenace studovaného úseku, bylo to třeba zřetelně uvést.

Nechápu přesně prohlášení, že sekvenace přechodných populací se nijak nelišily od sekvencí typických rostlin. Kterých typických? Patřily snad všechny přechodné populace k *D. viride*? A podařilo se tedy u těchto rostlin získat celé sekvence? Soudil jsem tak podle toho, že přechodné rostliny nejsou přiřazeny k žádnému haplotypu *D. fulvum*. Ovšem tento můj předpoklad se zhroutil po přečtení části diskuse Morfologicky přechodné rostliny. Tato část jednoznačně patří do výsledků, protože uvádí molekulární určení přechodných rostlin. Rád bych tedy věděl, ke kterým haplotypům *D. fulvum* patřily přechodné rostliny, které byly molekulárně určeny jako tento druh? Nebo je snad nebylo možno zařadit k žádnému haplotypu? Byly určeny jen podle mezidruhového indelu a delší sekvenace se nezdařila?

Jasnější, alespoň pokud se počtu haplotypů týče, je situace u *D. fulvum*. I když tabulka haplotypů a populací, u kterých byly zjištěny, by byla přehlednější než slovní vyjádření tohoto vztahu. Ovšem při detailním pohledu lze i zde nabýt určité nejistoty. V pozici 214 není podle Přílohy 2 žádná substituce, protože je v ní v textu také zmiňovaný indel. Má autorka nějaký důvod, proč nepojmenovala haplotyp z lokality Smolný vrch? Co znamená, že se od ostatních haplotypů lišil jen mírně? V této souvislosti je zřetelně vidět potřeba zařadit elektronickou podobu primárních dat minimálně do příloh, aby bylo možno v případě nejasností provést vlastní analýzu. Domnívám se, že pro popsání vzájemných vztahů haplotypů *D. fulvum* by bylo vhodné vytvořit jejich nezakořeněnou síť.

Bylo zmiňovaných 7 rostlin *D. fulvum*, u kterých byl osekvenován úsek trnM-trnV, vybráno tak, aby zahrnuly rostliny se všemi zjištěnými haplotypy ITS?

Morfometrická analýza

PCA

Co znamenají barvy na obrázku 4 a 6? Je to určení na základě morfologie nebo molekulární analýzy, nebo snad dokonce kombinace? V komentáři k obrázku 5 je mylně uvedeno, že první osa je negativně korelována se znaky *D. fulvum* a pozitivně s lámavostí listů. Je tomu naopak.

LDA

V případě lineární diskriminační analýzy je již jasně uvedeno, že klasifikace byla provedena na základě molekulárních dat. To je skvělé a soudím z toho, že populace, které se nepodařilo molekulárně určit nebyly do této analýzy zařazeny. Ovšem tuto mojí úvahu poněkud kazí zobrazení populace 24, kterou se podle předchozího textu nepodařilo molekulárně určit, na obrázku z LDA. Byla snad na základě molekulárně určených rostlin vytvořena nějaká klasifikační funkce a ta pak byla aplikována na populaci 24?

Popisná statistika

Jak mám rozumět tvrzení nad obrázkem 9, že do grafů byly vyneseny všechny naměřené hodnoty příslušného znaku? Předpokládal bych, že sem budou vyneseny hodnoty naměřené u rostlin, které byly molekulárně určeny. Zajímavé by bylo ukázat, jakých hodnot nabývají znaky u přechodných rostlin molekulárně přiřazených k nějakému druhu. Grafická úprava obrázku 9 je dost slabá.

Populační dynamika

První věta této části ve mně budí dojem, že sama autorka druh nalezla či alespoň revidovala na uváděných 341 mikrolokalitách v ČR. Pokud jsem ale správně pochopil metodiku, tak tato data jsou primárně převzata ze závěrečných zpráv monitorování druhu, které prováděli nejrůznější jiní autoři.

Populace v jižních Čechách a Implantace

Obrázek 13 považuji za nepřehledný. Zřejmě by pomohlo, kdyby barvy nebyly generovány náhodně a podobnou barvou byly označeny plochy ze stejné lokality. Obrázek 14 je nekvalitní a byl zřejmě vyexportován v nízkém rozlišení.

Diskuse

Úvodní odstavce diskuse z větší části opakují výsledky a skutečná diskuse je velmi omezená. Část diskuse věnovaná přechodným rostlinám patří do výsledků. V části věnované populační dynamice by se mi líbil tabulkový přehled zaniklých lokalit a srovnání se současným stavem. Toto srovnání by bylo také vhodné zobrazit na mapce v příloze 6.

V části lokality v jižních Čechách jsem se konečně dozvěděl něco i k metodice průzkumu vytípaných lokalit. Škoda, že tato informace není uvedena v metodice.

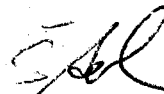
Přílohy

Přehled lokalit v Příloze 1 považuji za nepřehledný. Pro hledání by bylo prospěšné seřadit lokality podle druhu. Avšak nechápu, jaké označení druhu zde bylo použito. Nejpravděpodobnější je kombinace – v některých případech původní určení, v některých pak určení molekulární (např. populace 41). Správně měly být uvedeny určení obě. Lokalita Podyjí-Ostroh je zřejmě v obrázcích 1 a 2 překřtěna na lokalitu Nový Hrádek.

V Příloze 2 by bylo vhodné doplnit alespoň nějaké hrubé geografické informace k položkám získaným z Genbanku.

Závěrem

Předloženou diplomovou práci považuji za značně nevyváženou. Objem a různorodost získaných dat jsou chvályhodné a zřetelně nadstandardní. Naopak jejich zpracování, prezentace a zasazení do kontextu spíše podprůměrné. Proto navrhuji hodnotit předloženou práci stupněm velmi dobře.



ing. Milan Štech, PhD

Oponentský posudek na diplomovou práci

Autorka Julie Jandová předložila diplomovou práci „*Bionomie druhu Dicranum viride*“. Práce se na 42 stranách (+ 7 přílohách) věnuje rozlišení mechů *Dicranum viride* a *D. fulvum* pomocí morfometriky a sekvenování, dále studuje rozšíření *D. viride* v jižních Čechách a jeho změny v průběhu několika let. Pomocí transplantačních experimentů sleduje míru úspěšnosti v osidlování nových substrátů. Primární data autorka statisticky zpracovala fylogenetickými, mnohorozměrnými a popisnými analýzami. Konkrétní typy analýz jsou dobře zvoleny vzhledem k charakteru dat. Autorka byla schopna jasně formulovat cíle práce.

Práce je po jazykové stránce zdařilá, je psána kultivovaným jazykem s malým množstvím překlepů (označeny přímo v textu). Místo bych volila raději české termíny než počešťování anglických a anglické (např. reagencie, termocycler, ?alignment, gapy, kolabovat).

Práce je členěna dle zvyklostí vědecké práce, diskuze je poměrně krátká vzhledem k rozsáhlosti kapitoly s výsledky. Diskuze je vedena spíše jako vlastní zamyšlení nad výsledky a jejich souhrn, uvedení do širšího kontextu či srovnání s adekvátními pracemi jiných autorů není příliš veliké.

Množství použité literatury je dostatečné, ačkoliv dotažení diskuze by seznam literatury vhodně rozšířilo.

K práci mám dále tyto poznámky a dotazy:

- Bionomie se zabývá celkově životem určitého druhu organismu, zahrnuje jeho životní cyklus, výživu, rozmnožování, vývoj atd., práce se zabývá spíše taxonomií a populační dynamikou, volila bych méně obecný název práce.
- Zkratku ITS1/5,8SRNA/ITS2 bych podrobněji rozepsala již v metodice, ne až ve výsledcích.
- Při citování více prací stejných autorů z jednoho roku používat rozlišení a, b, bez něj není zřejmé, která z citovaných prací je zkrácenou citací myšlena (Košnar 2010, Mudrová 2008).
- V seznamu literatury chybí citace Holá 2010, Košnar et Mikulášková 2007.
- Jsou trvalé plochy používané pro studium populační dynamiky stále dohledatelné? Autorka nikde neuvádí souřadnice jednotlivých stromů s trvalou plochou.
- Proč autorka nazývá jednou experimentální část „implantační“ experiment a jednou „transplantační“?
- Jaké byly zdrojové populace pro transplantační experimenty (na jakou vzdálenost byly jednotlivé genotypy přenášeny)? Byly rostliny přenášeny z jednoho druhu stromu na stejný? Pokud ne, byl tento aspekt změny substrátu nějak podchycen?
- Nemůže být špatné přežívání rostlin způsobeno tím, že byla přesazena pouze jedna rostlina (byla více náchylná ke zničení), než kdyby se přenášel malý polštářek? Na skalky se to sázelo také po jedné rostlině do jedné trhliny?
- Byly stromy zkoumány i ve větších výškách, když autorka píše, že se *D. viride* vyskytuje nejčastěji ve výšce 50-150 cm od baze stromu?
- Přijde mi zvláštní zaznamenávat pokryvnost druhu s přesností cm^2 a porovnávat jí mezi sebou v rámci let, když některé stromy nebyly dohledány, či se druh vyskytoval příliš vysoko na to, vnáší to tam při tomto měřítku obrovskou chybu. Jak jsou řešeny roztroušené populace, je měřen každý polštářek zvlášť?
- Obr 12. Graf závislosti velikosti populace na čase – osu x „roky“ by bylo vhodnější jinak škálovat, aby vzdálenost 2001-2009 byla opticky větší než 2009-2010.
- Čím si autorka vysvětluje, že *D. viride* lépe přežívalo na skále ačkoliv je to druh přirozeně epifytický?
- Příloha 4. Pokud tmavé čtverečky označují místa, kde se jednotlivé haplotypy liší, pak nejsou označeny všechny odlišnosti.

Přes všechny uvedené poznámky a výhrady je předkládaná práce kvalitní, přináší nové informace a autorka dokázala pomocí zvolené metodiky zjistit odpovědi na otázky, které si položila. Autorka prokázala schopnost samostatné práce, orientace v problematice a schopnost syntézy výsledků.

Práci doporučuji k obhajobě. Návrh hodnocení: **výborně**.

18.1.2010 Mgr. Eva Mikulášková

