

**OPONENTSKÝ POSUDEK MAGISTERSKÉ PRÁCE Bc. MARKÉTY DORTOVÉ**  
**„ADAPTIVNÍ EVOLUCE HADCOVÉ TOLERANCE U VYBRANÝCH DRUHŮ**  
**ČESKÝCH HADCOVÝCH ROSTLIN“**

Předložená práce tematicky navazuje na bakalářskou práci autorky a na 43 stranách textu a 10 stranách příloh se zabývá hadcovou tolerancí několika rostlinných druhů osidlujících jak hadcové, tak nehadcové substráty. Konkrétně se jedná o silenku nadmutou (*Silene vulgaris*), chrastavec rolní (*Knautia arvensis*), svízel nízký (*Galium pumilum*) a svízel moravský (*Galium valdepilosum*). Jelikož kromě *S. vulgaris* se jedná o polyploidní komplexy, hadcová tolerance byla uvažována i ve vztahu k ploidnímu stupni rostlin. V případě komplexu *Galium pumilum* agg. bylo součástí práce i zmapování výskytu jednotlivých druhů, resp. cytotypů v rámci České republiky a příhraničních oblastí. Metodicky tedy práce obnášela zhodnocení ploidního stupně u rostlin rodu *Galium* (celkem 58 populací) pomocí průtokové cytometrie a následný hydroponický kultivační experiment, či spíše sadu experimentů, které jsou stěžejní částí práce. Získané výsledky jsou zajímavé, dobře interpretovatelné a zasloužily by publikaci v odborném časopisu. Překlepy, prohřešky proti pravidlům pravopisu a občasná stylistická neobratnost jsou přítomny v míře únosné a nenarušují pochopení a čtivost textu. Přes nespornou kvalitu lze však práci vytknout některé nedostatky, které její hodnotu nikterak nesnižují, nicméně před případnou publikací výsledků by měly být zohledněny. Připomínky a otázky, které považuji za vhodné komentovat, resp. zodpovědět při obhajobě, jsou v textu zvýrazněny tučným písmem, ostatní jsou spíše rázu formálního či slouží jako podněty pro přípravu případného rukopisu a nevyžadují autorčin komentář.

Úvod, následující kapitola *Polyploidizace a její ekologické důsledky* a kapitoly 3–5, v nichž jsou představeny studované taxony, představují literární rešerši uvozující experimentální část práce. Autorka prokázala schopnost pracovat s odbornou literaturou, logicky třídit získané poznatky a vyvozovat z nich závěry pro vlastní práci. V úvodu jsou nejprve krátce shrnuty podmínky hadcových půd a přízpůsobení hadcové vegetace a je představena zkoumaná problematika (přehled studovaných druhů, nástin metodických přístupů, návaznost na bakalářskou práci). Domnívám se, že této kapitole by slušel delší rozsah a detailnější pojednání o specifikách hadcových půd a mechanismech adaptace hadcových rostlin. V druhé kapitole autorka uvádí příklady ekologické diferenciacce mezi cytotypy stejného druhu a rozvíjí hypotézu o odlišné míře hadcové tolerance u diploidních a polyploidních rostlin. Logicky navazující kapitolou by poté, dle mého názoru, měly být obecné cíle práce, které jsou však definovány až zhruba ve třetině textu, za kapitolami věnovanými jednotlivým taxonům.

Metodická část práce (kap. 7) postrádá v některých partiích potřebné detaily. K nejdůležitějšímu opomenutí došlo v kap. **7.2.1, kde chybí informace o typu a složení použitého živného roztoku, který byl obohacován Mg či Ni. V kontextu hadcové tolerance je důležitá zejména koncentrace vápníku v použitém roztoku, resp. poměr Ca a Mg. Jaký byl poměr Ca/Mg v „kontrolním“ a „Mg obohaceném“ roztoku? Bylo upravováno pH použitých roztoků? Pokud nikoli, nemohly se experimentální roztoky lišit i v tomto parametru?** Tabulka 1 je matoucí – pojem standardní roztok je na konci str. 16 použit ve významu „roztok bez zvýšených koncentrací Mg a přídavku Ni“, zatímco zde slouží k označení koncentrovaných zásobních roztoků. Uvítala bych stručnou prezentaci výsledků pilotního pokusu (např. formou přílohy). **Proč byla v případě svízelů zvolena nižší koncentrace Ni, která dle výsledků měla poměrně slabý vliv na rozvoj kořenového systému? Jaké listy byly použity pro zjištění přírůstku nejdelšího listu? Z fotografií v příloze se semenáčky zdají být ve stadiu děložních listů.** Dále by do metodiky bylo vhodné doplnit informaci o světelných podmínkách v klimaboxu, způsobu počítání postranních kořenů (byla uvažována i kořenová primordia?) a doplnit detaily u cytometrických analýz (kultivar standardu, složení roztoků). Formální připomínky: pojem „stresující prvek“ ve vztahu k hořčíku jakožto biogennímu prvku mi nepřijde vhodný. Stejně tak není namístě zjednodušující informace o aplikaci „roztoku hořčíku“, protože předpokládám, že i v základním živném roztoku byl hořčík přítomen. Co se týče statistického vyhodnocení výsledků, oceňuji zvládnutí statistických analýz při poměrně komplikovaném designu. Formální poznámku bych měla jen k nulovým hypotézám, např. pro interakci  $Mg \times Původ\ rostlin$  by měla znít „přírůstek rostlin z různých substrátů není odlišně ovlivněn roztokem Mg“.



Výsledky (kap. 8) jsou zpracovány přehledně a vesměs čtivě, textová část je vyváženě doplněna tabulkami a grafy. U grafů zachycujících podobu signifikantních interakcí bych jen uvítala ukazatel variability dat (např. směrodatnou odchylku). Za velmi zajímavé výsledky považuji nejen zjištění rozdílů v hadcové toleranci mezi populacemi různého původu, ale i dokumentaci pozitivního vlivu přídavku Mg na toxicitu Ni a zjištění cytotypových rozdílů v toleranci k Mg u hadcových populací *G. valdepilosum*. V komentářích k výsledkům statistických analýz se autorka věnuje zejména celkovému přírůstku kořenové soustavy a přírůstku nejdelšího listu; naproti tomu data týkající se změny počtu postranních kořenů nejsou uvedena. **Byl tento parametr přídavkem Mg/Ni ovlivněn vždy negativně, nebo bylo pozorováno zmnožení kořenových primordií při současném zkrácení délky postranních kořenů? U *K. arvensis* a *S. vulgaris* je v tab. 2 a 3 uváděna signifikantní interakce *Ni* × *Původ rostlin* – následně v diskusi a závěru je však zmíněna absence rozdílů mezi hadcovými a nehadcovými rostlinami v toleranci k Ni. Mohu poprosit o komentář? Aplikace 50 μM koncentrace Ni měla za následek dramatickou redukci délky kořenů. Byla pozorována i změna architektury kořenového systému (např. tvorba zkrácených silných kořenů) či tmavnutí kořenových špiček, příp. lišily se v tomto ohledu populace různého původu?** Formální připomínky: V souvislosti s Mg je nevhodně užíváno spojení „přítomnost/nepřítomnost prvku“ (lépe např. „zvýšená koncentrace Mg“). V obr. 4 by histogramy cytometrických analýz měly být doplněny informací o variačním koeficientu (CV). V tabulce 2 je omylem zvýrazněna nesignifikantní interakce *Ploidie* × *Ni* pro parametr přírůstek hlavního kořene.

Ve stručné diskusi (kap. 9) autorka komentuje všechna podstatná zjištění, snaží se je vysvětlit a zasadit do kontextu publikovaných výsledků. Na str. 33 (1. a 3. odstavec) je zmíněna absence rozdílů v toleranci k Ni u hadcových a nehadcových populací *K. arvensis* a *S. vulgaris*. Jak už bylo zmíněno, toto tvrzení neodpovídá výsledkům v tab. 2, resp. 3. Naopak pro *Galium* je v tomto ohledu rozdíl mezi hadcovými a nehadcovými populacemi uváděn, ale v tab. 4 není interakce *Ni* × *Původ* signifikantní. V 2. odstavci upozorňuji na nepřesnost ve jménu taxonu u práce Rajakaruna et al. (2003) – nejednalo se o *Sedum anglicum*, nýbrž *Lasthenia californica*. **Rozdíly v toleranci hadcových a nehadcových populací k vyšším koncentracím Mg připisuje autorka na základě literárních pramenů pravděpodobné schopnosti hadcových rostlin omezit příjem Mg. Bude tato hypotéza před případnou publikací výsledků ověřena analýzou rostlinné biomasy?** Omezený příjem Mg a zvýšený příjem Ca totiž zřejmě není obecným mechanismem hadcové tolerance (např. pro *K. arvensis* jsme při pěstování v hadcovém substrátu zjistili vyšší koncentrace Mg a srovnatelné koncentrace Ca v nadzemní biomase hadcových rostlin oproti nehadcovým). Případná informace o rozdílech v příjmu Mg (a jeho translokaci z kořenové do nadzemní biomasy) rostlinami hadcového a nehadcového původu by výrazně rozšířila možnosti interpretace výsledků. Co se týče redukce toxicity Ni působením Mg, autorka uvádí hypotézu o detoxikačním příspěvku Ca. Jelikož Ca byl však přítomen ve všech variantách ve stejné koncentraci, jeho role v pozorovaném jevu je málo pravděpodobná. **Absenci konsistentního vztahu mezi stupněm ploidie a hadcovou tolerancí přikládá autorka odlišné evoluční historii polyploidních komplexů *K. arvensis* a *G. pumilum* agg. Lze podobně vysvětlit i rozdíly v hadcové toleranci nehadcových diploidů a tetraploidů *K. arvensis*?**

**Závěr (kap. 10) by měl lépe zrcadlit vytčené cíle práce. Mohla by autorka odpovědět na otázky, které si položila v kapitole 6?**

Závěrem konstatuji, že studentka prokázala schopnost samostatné odborné práce a splnila nároky kladené na magisterské práce. S potěšením proto předloženou práci **doporučuji k obhajobě a navrhuji klasifikaci stupněm výborně.**

V Průhonicích 19. 5. 2011



RNDr. Radka Sudová, Ph.D.



## Posudek na magisterskou práci Markéty Dortové: Adaptivní evoluce hadcové tolerance u vybraných druhů českých hadcových rostlin

Magisterská práce Markéty Dortové navazuje na její bakalářskou práci, ve které se zabývala vlivem Ni a Mg, dvou prvků vyskytujících se ve zvýšeném množství v hadcových půdách, na růst a vývoj *Knautia arvensis*. V magisterské práci rozšířila studentka škálu srovnávaných rostlin o další druhy, které se vyskytují jak na hadci, tak jsou součástí vegetace nehadcových půd, a u kterých může vývoj adaptace na extrémní podmínky hadců souviset i s existencí různě ploidních komplexů. Autorka si vedle laboratorního kultivačního pokusu vyzkoušela i práci na cytometru při určování jinak těžko rozlišitelných zástupců populací *Galium pumilum* agg. lišících se ploidním stupněm.

Členění práce odpovídá běžným zvyklostem. Nedbalá je práce s literaturou – z 63 prací v seznamu literatury se v textu pracuje pouze s 46, naopak jedna práce v seznamu chybí. Některé odkazy jsou neúplné (je uváděno jen jméno prvního autora, takže nejde vždy odlišit, o jakou práci z více publikovaných v jednom roce se jedná).

V úvodu práce chybí podrobnější charakteristika hadcových substrátů, především forem, ve kterých se v hadcových půdách vyskytují dva použité prvky, a jejich koncentrace. Tomuto se autorka více věnovala ve své bakalářské práci a je škoda, že část vyhledaných informací nepoužila i v úvodní části předložené práce (čitatel by měl pak lepší představu, v jakém vztahu jsou experimentální podmínky vůči podmínkám v terénu, na hadcových lokalitách). Podobně chybí jakékoli informace o půdních charakteristikách na lokalitách, ze kterých pocházela nasbíraná semena srovnávaných populací studovaných druhů. Zvolení použitých koncentrací stresujících prvků (jejich sloučenin) sice může poskytnout průkazné výsledky, ale může být na hony vzdáleno koncentracím, se kterými se rostliny setkávají v terénu (a na které se mohly adaptovat). Proč autorka použila zvolené formy (sloučeniny)? Např. při použití dusičnanu nikelnatého měl použitý roztok zvýšenou koncentraci dusičnanových iontů, což mohlo ovlivnit růst kořenových soustav i celkové prospívání rostlin. Jaké bylo složení živného roztoku (pro předpěstování semenáčků), následného kontrolního roztoku a experimentálních roztoků? Kolik bylo kde živin a v jaké formě? Jaký měly vztah standardní roztoky (uvedené v tab. 1 na straně 17) a standardní živný roztok (viz str. 18 nahoře), ve kterém byly semenáčky pěstovány před započítáním vlastního experimentu? A proč je koncentrace sloučenin Ni a Mg ve standardních roztocích mnohonásobně vyšší než v experimentálních „stresujících“ roztocích? Hovoří se



v práci skutečně o koncentraci prvků (Ni a Mg) nebo o koncentraci jejich sloučenin (kde je zastoupení prvků řádově nižší)?

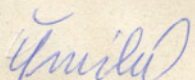
Autorka uvádí, že pro porovnání přírůstku kořenového systému použila program RootArch. Srovnávala délku hlavního kořene, počet postranních kořenů a celkovou délku kořenového systému z kořenů nafocených na začátku a naskenovaných na konci pokusu. Jak autorka zohlednila rozdíl vzdálenosti, ve které byly kořeny při fotografování (20 cm) a při skenování? V metodice to není uvedeno a pokud by autorka neprovedla korekci, mohl by být přírůstek kořenové soustavy nebo délky hl. kořene dán jen rozdílem velikosti kořenů snímaných z různé vzdálenosti. Čtenáři by jistě pomohlo v metodice se lépe orientovat, kdyby byly uvedeny vzorové fotografie ze začátku a skeny z konce pokusu doplněné měřítky.

Pozor na interpretaci výsledků. Tvorba delšího kořenového systému nemusí vždy znamenat, že rostlině se daří lépe (i když v případě trápení semenáčků v roztocích Mg a Ni tomu tak zřejmě bylo). Tvorba delšího, bohatěji větveného kořenového systému může znamenat, že rostlina má naopak nedostatek zdrojů přijímaných z půdy (jak je tomu např. u rostlin rostoucích na živinami velmi chudých stanovištích).

Jsem trochu na rozpacích při srovnání cílů práce (str. 14) s metodickým uchopením problému a závěry (str.37). Jako první cíl si autorka kladla zjistit, zda tolerance na hadcové půdy (zjištěná v bakalářské práci) u chrpy je vlastností všech hadcových populací. V bakalářské práci použila studentka semínka ze dvou diploidních hadcových populací a ze tří tetraploidních hadcových populací, kdežto v magisterské práci počet lokalit snížila. Proč? Je možné např. otázku, zda u druhu *G. pumilum* došlo ke vzniku specializovaných hadcových ekotypů z netolerantních nehadcových populací zodpovědět na základě použitého pokusu?

Markéta Dortová ve své magisterské práci odvedla odpovídající množství práce při přípravě vzorků (sběr semen, cytometrie, příprava kultivačního experimentu) i jejich zpracování (focení a skenování, zpracování obrázků v programu RootArch). V práci dostatečně neobjasnila podmínky pokusu ani neodůvodnila použití zvolených chemikálií, není též jasný vztak použitých koncentrací stresujících prvků vůči koncentracím, s nimiž se rostliny setkávají na hadcových substrátech. Pokud bude schopná tato problematická místa objasnit při obhajobě, navrhuji hodnotit práci velmi dobře.

V Českých Budějovicích 20. května 2011

  
Majka Šmilauerová