

Oponentský posudek na magisterskou práci Jana Podroužka „Četnost výskytu fertilních a sterilních populací hasivky orličí (*Pteridium aquilinum*) s porovnáním jednotlivých cytotypů“

Předložená práce se zabývá různými aspekty rozšíření, reprodukce a variability druhu *Pteridium aquilinum*. Jejím cílem bylo kriticky zpracovat rozšíření druhu v ČR, zhodnotit fertilitu populací a najít případnou závislost plodnosti na klimatických faktorech. Neméně významným cílem bylo studium genetické variability populací za pomoci mikrosatelitů a průtokové cytometrie a srovnání genetické variability a fertility dvou ploidních úrovní. Bohužel tomuto komplexnímu záměru vůbec neodpovídá název práce, který zřejmě odráží pouze původní zadání, což je škoda.

Autorovi se podařilo získat velmi slušný objem dat, který nepochybně posunuje poznání zdánlivě neproblematického druhu vpřed. Avšak na výsledné podobě práce je podle mého názoru patrný nedostatek času při dokončování, který zabránil autorovi v klidu a s rozvahou práci promyšleně strukturovat, zamyslet se nad výsledky a celé téma ve světle získaných výsledků a známých skutečností komplexně diskutovat. Některé části textu patří do jiných kapitol. Např. začátky výsledkových kapitol 4.4 a 4.5 spíše do úvodu, diskuse a metodiky, kde už v kapitole 3.4 také jsou a ve výsledcích se informace zbytečně opakují. Velmi bych ocenil podrobnější popis metodiky většiny statistických analýz. Ačkoliv je práce téměř bez překlepů, s malým množstvím chyb, nechte se příliš dobře, protože je na některých místech psána zbytečně složitě a kostrbatě, v textu je často použito zbytečných slov (např.: „Kritérium fertility populace nebylo podmíněno přítomností vyvinutých výtrusnic u všech exemplářů dané populace, naopak zcela běžně bylo fertilní pouze menší procento rostlin“ – zcela by stačilo např.: „Populace byla označena za fertilní, pakliže v ní byla přítomna alespoň jedna fertilní rostlina.“). Zejména v částech diskuse jsou určité úvahy nejasné nebo nedokončené a čtenář se musí o smyslu vyjádření spíše dohadovat (např.: Jako možnou alternativu uvádí Sheffield et al. (1993) proces aposporie – Co to ale tedy konkrétně pro vznik triploida znamená?). Za špatný považuji chaotický přehled lokalit bez logického uspořádání (Příloha 1). Zjevně to mate i autora a z nepozornosti vede k různým chybám – prakticky totožné lokality pod různými čísly (Rožnov pod Radhoštěm – L1, L94), lokalita L 32 Skövde jednou zařazena do Švédska (Příloha 1) jednou do Norska (Tab. VII), lokalita Zell am See (L6) chybně do Německa, zeměpisná délka u portugalské lokality je správně západní a nikoliv východní apod. Vadí mi rovněž, že ačkoliv se celou dobu předpokládá možná vazba fertility na podmínky prostředí, není o lokalitách uvedena žádná ekologická informace.

Zásadnější připomínky a náměty k diskusi během obhajoby shrnuji do následujících bodů:

1) Rozšíření

Protože zpracování rozšíření hasivky v ČR bylo jedním z cílů práce, nepovažuji uvedený krátký schematický popis mapy za odpovídající významu této části práce. Použití nepřirozených geografických jednotek pro regiony, kde je druh hojný (např. jižní Čechy, západní Morava nebo východní část severních Čech), je nevhodné. Nabízí se přirozené celky jako např. Brdy, Předšumaví, Vysočina apod. Není pravda, že druh neroste v termofytiku. Z mapy jasně vyplývá, že se vyskytuje i tam. V termofytiku se tedy jedná o zcela izolované a náhodné výskyty nebo je možné najít nějaké zákonitosti? Pokud ano, pak bych prosil tato specifika a anomálie uvést a diskutovat během prezentace. Nemyslím si, že by se v případě citace konkrétních důležitých nálezů (např. Nymburk, Malá Kotelná jáma) měla citovat databáze Pladias. Citace konkrétního dokladu nebo literárního zdroje je mnohem vhodnější.

2) Fertilita

Ví se něco o plodnosti hasivky v závislosti na stáří rostliny? Ví se něco o celkovém počtu vyvinutých listů na jednom oddenku (tedy rostlině) a podílu fertálních listů v něm? Dokázal bych si představit, že zcela přirozeně je fertální jen malé procento listů jednoho jedince. Data získaná z herbářového materiálu jsou nepochybně ovlivněna náhodným sběrem sterilních listů, které v populacích zjevně převažují. O smysluplnosti Tab. II, která vyjadřuje počet sterilních a fertálních sběrů v jednotlivých herbářích pochybuji. Nezkoušel si se podívat pouze na vaše sběry cíleně dělané pro tento účel? Předpokládám, že jste daleko lépe prohledávali populace a pokud byly sterilní, tak to může mít vyšší výpovědní hodnotu, než když je v herbáři jedna náhodně vybraná sterilní rostlina. Přiznám se ale, že i u vašich sběrů mám o celé metodice pochybnosti. Zarazilo mne, že lokalita L1 (Rožnov pod Radhoštěm), která je označena jako sterilní, je podle souřadnic v podstatě totožná s lokalitou L 94 považovanou za fertální. Byla snad zařazena do obou kategorií? Podobná situace je u lokalit Pernek (L26+L95+L96) a Hamr (L10+L102). Tam ale doufám, že se s nimi, podobně jako u analýzy mikrosatelitů, vždy nakládalo jako s lokalitou jedinou. Zajímalo by mne však, do jaké kategorie byly zařazeny. Není mi jasné, jakým způsobem byla zkoumána závislost výskytu sterilních a fertálních rostlin na klimatických datech? V metodice se mluví o jakési korelaci a testování t-testem. Co tedy bylo korelováno a co se testovalo t-testem? Pokud byla ta data k dispozici, neuvažovali jste o nějaké charakteristice typu srážky během vegetační sezóny, případně srážky vztažené na teplotu v tomto období. Tato proměnná by třeba lépe vyjadřovala oceanitu území?

3) Abortace výtrusů

Nechápu smysl poslední věty prvního odstavce metodiky 3.2. Míra fertility, která se týká procenta abortovaných výtrusů. Nepatří tato věta do kapitoly 3.5, kde se opravdu zjišťovaly abortované výtrusy u obou cytotypů? Nebo se snad všechny revidované rostliny prohlížely pod mikroskopem a počítalo se SAI?

Vysoké procento abortace spor u jediné studované triploidní rostliny je zajímavým výsledkem. Rozhodně však nesdílím autorovo nadšení pro neustálé zdůrazňování tohoto výsledku. Absolutně pak nechápu, proč je tato charakteristika zařazena do klíče k určení jednotlivých cytotypů na str. 31, když to platilo pouze pro jednu rostlinu za dvou dosud studovaných? Lze snad z nějakých důvodů předpokládat, že to bude platit obecněji?

4) Genetická struktura populací

Tuto část práce jednoznačně považuji za nejzajímavější a přinášející nové zajímavé informace. Také přinesla mnoho zajímavých otázek, jejichž další studium má smysl. Ovšem i zde mám řadu připomínek a komentářů k analýze i interpretaci výsledků.

Nerozumím tomu, proč byly diploidní a triploidní rostliny ve smíšených populacích hodnoceny společně (Tab. VII, VIII a IX). Byl proto nějaký důvod? Já to naopak považuji za zavádějící, když předpokládám, že diploidi a triploidi se v principu liší v počtu lokusů/alel. Z prezentovaných dat se zdá, že triploidi mají vyšší míru klonality. Společné hodnocení smíšených populací to zastírá. Proč nebyla vyhodnocena a srovnána celková genetická variabilita diploidů a triploidů, což bylo uvedeno i jako jeden z cílů práce?

Nerozumím úporné snaze dokázat, že triploidi jsou nutně odvozeny od zcela odlišných populací než studování diploidů, zvláště když odhalená genetická variabilita mezi ploidiemi je zanedbatelná. Tato snaha vede až k závěru, že se k nám triploidi dostávají vzdušnými proudy z oblastí mimo ČR (str. 35, 38). Nevím přesně, co se ví o šíření spor kapradin, ale úvaha ze str. 35, že vzhledem k omezené fertilitě našich populací nemusí „zdejší fertální rostliny obsáhnout celý prostor státu“ mi přijde velmi odvážná. Tím spíše, že se pak jako pravděpodobnější vysvětlení nabízí přísun spor z atlantské části Evropy, kde již jen ztráty při transportu musejí

být značné. Jsou snad nějaká tvrdá data o řádově vyšší fertilitě v západní Evropě? Přitom autor sám připouští, že by v některých případech triploidů mohli být odvozeni z diploidů téže populace (populace L99 – Loučovice, str. 23). Kdyby sám nebyl poněkud zmaten chaotickým číslováním populací, přišlo by mu jistě zajímavé i to, že v síti na obr. 17 jsou velmi blízko nejen rostliny různých ploidií z Loučovic, ale i rostliny z Perneka (= populace L26+L95+L96) a pokud se neomezíme jen na konkrétní populace, ale na celé regiony (například Třeboňsko, kde jsou všechny studované populace vzdálené ca 10 km), pak si lze vznik triploidů z populací přítomných v regionu celkem představit. Je to podle mne patrné i z obr. 19 – 22, kde se ve většině případů v rámci regionů nebo regionů sousedních blízké diploidní a triploidní rostliny najdou. V této souvislosti se chci zeptat, jak se lišila analýza PCoA zobrazená na obr. 18 (rozlišeny jen ploidie) od analýzy zobrazené na obr. 19–23 (zvýrazněny regiony a ploidie). Původně jsem si myslel, že jde o výsledek analýzy jediné. Na obr. 18 je však přece jen mírně odlišné uspořádání objektů. Nejsou zde náhodou zobrazeny jiné osy? Nebylo jinak nakládáno s objekty s chybějícími daty?

Výše uvedená interpretace však nic nemění na skutečně pozoruhodném výsledku značné genetické diverzity populací hasivky a zřejmě samostatném postavení triploidů. Z tohoto pohledu zůstává klíčovou otázkou vznik a šíření triploidů. Přiznám se, že v této části diskuse jsem se poněkud ztratil, protože některé úvahy mi přišly nejasné a nepochopil jsem je. Chci se tedy zeptat na několik věcí. Jak by vypadaly neredukované spory triploidů? Byly by diploidní nebo triploidní? Co by znamenala pro celý systém aposporie? Vznikaly by tedy rovnou triploidní gametofyty a z nich pak nepohlavně i sporofyty? Mohlo by docházet v této fázi k nějakému šíření na větší vzdálenost? Na řadu otázek pomůže zřejmě zamýšlená analýza ploidií pěstovaných gametofytů, možná z ní dokonce jsou už nějaké výsledky. Jistě je třeba do budoucna zkoumat i maternitu triploidů například za pomoci analýzy chloroplastové DNA.

Přes všechny uvedené připomínky se domnívám, že práce splňuje požadavky na magisterskou práci a přinesla mnoho zajímavých výsledků. Publikována nebude jen mapa rozšíření, ale po výrazném přepracování nepochybně vznikne i z cytometrických a mikrosatelitových dat zajímavý článek. Navrhuji ji hodnotit stupněm velmi dobře.



Ing. Milan Štech, Ph.D
České Budějovice, 17.5.2017

Oponentský posudek na diplomovou práci

Podroužek J.: Četnost výskytu fertálních a sterilních populací hasivky orličí (*Pteridium aquilinum*) s porovnáním jednotlivých cytotypů

Pteridium aquilinum je nápadná a v ČR poměrně hojná kapradina, která je však jen omezeně fertální; platí to jak pro časté diploidy, tak i pro vzácné triploidy. Na základě studia obsáhlého herbářového materiálu i vlastních terénních pozorování autor zjistil, že jen asi 16% rostlin je fertálních. Nepodařilo se najít žádné korelace mezi fertalitou a sledovanými podmínkami prostředí, kde rostliny rostou.

Výsledky analýzy materiálu pomocí průtokové cytometrie potvrdily, že u nás výrazně převažují diploidy (86%) nad triploidy (14%); jen 3% populací je tvořeno pouze triploidy, 8% je směsných. Rostliny obou ploidií se prokazatelně liší velikostí průduchů a spor; v práci je klíč k určení obou cytotypů na základě těchto znaků.

Mám následující dotazy:

Fertální populace ve smyslu názvu práce je – předpokládám – taková, ve které jsou alespoň některé rostliny fertální. Co považujete za jednu populaci? Např. v lesích na Českolipsku je plocha s *Pteridium* a několik metrů (desítek metrů) plocha další. Plochy řídce porostlé hasivkou mohou být i poměrně velké.

Jaký byl podíl Vámi v terénu detailně studovaných populací, ve kterých jste zjistil jen sterilní rostliny?

Herbářové položky byly ve většině případů asi sbírány „náhodně“, bez snahy nalézt fertální rostliny. Pak by mohly vypovídat o poměrné hojnosti sterilních a fertálních rostlin, ale jen omezeně o zastoupení sterilních a fertálních populací (pokud předpokládáme, že v populacích jsou sterilní rostliny mnohem hojnější). Není však vyloučeno, že pro některé herbáře (PR, PRC) sbírali botanici, kteří preferovali sběr fertálních rostlin; bylo by to možná dohledatelné podle sched. Mohla by odlišná „metoda“ sběru ovlivnit představy o poměrném zastoupení fertálních a sterilních populací?

V práci je řešena také přítomnost různých genet v jedné populaci a otázka triploidních cytotypů ve směsných populacích. Autor se přiklání k názoru, že triploidy většinou vznikají opakovaně, ale mimo území ČR a že se k nám dostávají dálkovým přenosem spor ze Z Evropy, kde jsou snad více fertální. Přenos spor je ale většinou jen málo efektivní, jak je zřejmé z ne-zavlékání jiných snadno detekovatelných západoevropských kapradin (*Osmunda*, *Matteuccia* atd.).

Autor občas používá v českém textu anglické termíny, které jsou českými snadno nahraditelné (např. „missing data“).

Název práce mi připadá složitý, možná by stačilo „Četnost výskytu fertálních a sterilních populací jednotlivých cytotypů h. o ...“.

Práce je zpracovaná velmi dobře a pečlivě jak po stránce formální, tak i věcné. Autor prostudoval velké množství literatury a pro dosažení výsledků použil moderní metody, získaná data patřičně zpracoval a vyhodnotil. Jako „vedlejší“, ale velmi hodnotný a důležitý produkt práce lze hodnotit zpracování mapy rozšíření hasivky v ČR.

Doporučuji, aby práce byla přijata k obhajobě a ohodnocena **v ý b o r n ě**.



Ústí n. L. 9. 5. 2017

Doc. RNDr. Karel Kubát, CSc.