

Oponentský posudok na diplomovú prácu Evy Kondrysovej: O hybridním původu *Chenopodium album* / On the origin of *Chenopodium album* by means of hybridization

Predkladaná diplomová práca s takmer darwinoským názvom sa zaoberá genetickou štruktúrou vybraných diploidných, tetraploidných a hexaploidných druhov z okruhu mrlíka bieleho (*Chenopodium album* agg.), kde sa predpokladá alopolyploidný pôvod hexaploidných populácií *Chenopodium album* s.str.

Diplomantka si stanovila tieto ciele (str. 10):

1. Prenos mikrosatelitových markerov z *Chenopodium quinoa* na študované druhy.
2. Určenie genetickej diverzity 5 študovaných druhov.
3. Zistenie, či dochádza medzi druhmi k hybridizácii na území ČR.
4. Zistiť, či dochádza k recentnému vzniku hexaploidného *C. album* s.str. na lokalitách spoločného výskytu s inými študovanými druhmi.
5. Piaty, podstatný cieľ, hoc nespomenutý v predmetnej kapitole, ale zrejmy z názvu práce a z úvodnej kapitoly (str. 9) je zistenie pôvodu 6x cytotypu a teda zistenie predpokladaného diploidného a tetraploidného rodičovského druhu.

Na dosiahnutie stanovených cieľov autorka úspešne cross-amplifikovala 12 mikrosatelitových markerov, z celkového počtu vyše 60 testovaných, a použila ich jednak na materiáli zbieranom v predchádzajúcich rokoch na území strednej Európy (CZ, SK, HU) a jednak na materiáli zbieranom počas samotnej diplomovej práce na 5 lokalitách spoločného výskytu študovaných druhov v Prahe a širšom okolí. Samotná práca je vypracovaná na veľmi vysokej úrovni, čo sa týka formálnej aj obsahovej stránky, príslušné kapitoly, vrátane tabuliek sú napísané veľmi detailne a precízne. Použitá metodika a aj analýzy možno hodnotiť ako vhodne zvolené, až na cieľ 5, kedy mali byť zrejme použité iné markery. Diplomantke sa podarilo splniť stanovené ciele, avšak s viacerými interpretáciami výsledkov, a to najmä v spojení s cieľmi 3 až 5 sa neviem úplne stotožniť (viď nižšie), nakoľko sú podľa mňa buď nepresné alebo priodvážne.

Aj napriek týmto drobným nedostatkom má práca vysokú úroveň, zaoberá sa nesporne zaujímavou problematikou a je z nej vidieť vynaložené úsilie diplomantky pri zbere materiálu, molekulárnych analýzach, a hodnotení molekulárnych dát. Prácu odporúčam prijať k obhajobe a hodnotím ju stupňom výborný.



V Prahe, 25.5.2015

Patrik Mráz

Poznámky a otázky k samotnej práci:

1. str. 16. „Ve volné přírodě ale často vzniká tzv. triploidní blok, kdy ste triploidní jedinci netvoří nebo bývají často sterilní či neživotoschopní.“

Je výsledkom tzv. triploidného bloku skutočne sterilita a neživotoschopnosť triploidných hybridov?

Detekcia hybridov bola robená na základe výsledkov Structure a mám k nej viaceré poznámky:

2. V metodike nie je vysvetlné čo je považované za kríženca. **Brali sa do úvahy nejaké hodnoty z „admixture index-u“ s nejakou medznou hodnotou? Na základe čoho autorka tvrdí (viď str. 90), že našla F1 a iné hybridy?**

3. V metodike, alebo v úvode nie je vysvetlené, čo autorka chápe pod pojmom dávny a recentný hybrid. Hoci je to zmienené v diskusii (str. 88), tieto pojmy sa opakujú už od úvodu a sú aj vo výsledkoch. Z konceptuálneho hľadiska je nevyhnutné dať vysvetlenie do úvodných kapitol, nie až v závere a argumentovať podrobnejšie (napr. mutačná rýchlosť mikrosatelitov a pod.).

5. Autorka predpokladá, že vďaka rýchlej mutácii miktosatelitov by mali mať staré hexaploidné jedince *C. album* iné alelické zloženie ako jeho priamy diploidný, či tetraploidný predkovia. Napriek tomu študované druhy zdieľajú pomerne veľký počet alel. **Vie sa niečo o divergencii blízko príbuzných druhov skupiny *C. album* na základe napr. sekvenčných údajov? Môže byť zdieľanie alel a teda „hybridný patern“ vysvetlené zdieľaným ancestrálnym polymorfizmom? Druh *Chenopodium album* vznikol zrejme niekde mimo Európu. Ako boli v štúdiu zastúpené potenciálne rodičovské druhy?**

6. Na str. 62 autorka tvrdí, že hexaploidná prímes v tetraploidnom zhľuku, je pravdepodobne artefakt daný zdieľaním mnohých spoločných alel medzi druhmi. Čiže nie hybridizácia... Čo však s prímesami v 6x zhľuku? Tie sa už neoznačujú ako artefakty, ale ako krížence ... Samozrejme všetky prímesty vo všetkých zhľukoch sú spôsobené tým, že zdieľajú nejaké alely, inak by neboli „prímesami“. **Mám teda tomu rozumieť tak, že artefakt = kríženc? Ak nie, aké kritérium použila diplomantka na odlíšenie artefaktu od kríženca? Čo je to artefakt v tomto prípade?**

7. Na obr. 9 autorka šípkami vyznačila recentne vzniknuté krížence *C. album*, spolu 8, ale zmesných patternov je tu ďaleko viac. **Tieto sa nepokladajú za krížence (viď ale str. 62)? Čo potom interpretácia obr. 11, kde každá „zmeska“ bez ohľadu na výšku stĺpca v Structure výstupe sa hodnotí ako hybrid?**

8. **Obr. 18. Zelený hybrid v modrom zhľuku nemôže byť niečo iné? Resp. ak vznikol na lokalite, ako to, že tu nie je žiadna prímes „domáceho“ genotypu? Imigrant? Artefakt?**

9. Na str. 86 autorka diskutuje mieru vnútro populačnej variability s rozmnožovaním, nakoľko v

Chenopodiaceae je veľký počet samoopelivých druhov. **Ako je to s konkrétnymi taxónmi, ktoré študovala?**

10. Na str. 89 autorka tvrdí že, „Výstupy z analýz potvrdili výsledky predchádzajúcich štúdií poukazujúci na alopolyloidný pôvod *C. album*“. **Na základe akých výstupov?**

Structure, neodhalila alopolyloidný pôvod, pod ktorým sa myslí výrazne zmesný a zároveň konzistentný pattern genómu *C. album*. Naopak, hexaploidné *C. album*, až na zriedkavú introgresiu z 4x clusteru a ešte zriedkavejšiu z 2x clusteru, tvorí geneticky veľmi homogénnu skupinu (obr. 9, str. 64). PcoA ukazuje, že *C. album* je najbližšie *C. striatiforme* a *C. strictum*, podobne tak NJ strom, ktorý by asi najviac by mohol indikovať intermediárne postavenie medzi *strictum* a *striatiforme*. **Sú toto ale jednoznačné a nespochybniteľné molekulárne dôkazy alopolyloidného pôvodu?**

11. Na str. 89. autorka tvrdí, že „Moje studie ukázala, že na území ČR k recentnému vzniku *C. album* môže pravdepodobne dochádzať, i keď veľmi vzácně, **Myslí tým autorka, že môže dochádzať k zriedkavej medzidruhovej hybridizácii medzi *C. album* a inými ploidiemi alebo tým myslí skutočne vznik ustáleného hybridogénneho druhu *C. album* v strednej Európe?**

12. Líšia sa morfológicky krížence *C. album*, ktoré boli nájdené v tejto štúdií, od ustáleného a podľa Structure „nehybridného“ alopolyploida *C. album*?

13. Existujú herbárové doklady k týmto recentným krížencom?

14. Bol kontrolovaný počet chromozómov - ploidný stupeň u všetkých rastlín, ktoré boli označené ako recentné krížence? Kontrolovaná bola ploidia u rastlín použitých na testovanie SSRs (str. 34) a u problematických jedincov (str. 37). **Spadali tam aj všetky krížence?**

15. Pôvod hexaploidného cytotypu je nejasný, autorka predpokladá, že by mohol vzniknúť krížením diploida a tetraploida za vzniku triploidného hybridu. **Aký je jeho ďalší osud? Dôjde k somatickej polyploidizácii? Alebo je tu iný mechanizmus? Ako by sa to malo prejaviť na patterne v SSRs?** Mne sa ako najpravdepodobnejšia možnosť vzniku hexaploida javí kríženie tetraploida s tetraploidom s účasťou jednej neredukovanej gaméty. Tento spôsob vyžaduje len jeden krok a nevyžaduje interploidný medzistupeň. Samozrejme v pôvode 4x taxónu (taxónov) môže byť zahrnutý aj diploidný genóm(y).

16. Zmiešané genetické patery autorka vysvetľuje ako dôkaz pre recentnú hybridizáciu. **Ako možno vysvetliť nesúlad medzi hybridmi nájdenými v tejto štúdií, a absenciou interploidných hybridov v prírode ako aj v heteroploidných kríženiach (vid' Mandák et al. 2012, Flora)?**