

Ekologické a evoluční důsledky polyploidizace

Bc. Zuzana Pavlíková, 2014

Stručné zhodnocení:

V diplomové práci autorka testovala možnost tvorby neopolyploidů u třech vybraných druhů (*Vicia cracca*, *Centaurea phrygia*, *Pimpinella saxifraga*). Působením kolchicinu na diploidní semenáče se pokoušela o vytvoření tetraploidů 1. generace a následně křížením těchto jedinců o vytvoření 2. generace neopolyploidních rostlin. Částečného úspěchu dosáhla pouze u *V. cracca*. U rostlin jevících se jako neotetraploidy porovnávala vybrané vlastnosti (velikost průduchů, rychlost klíčení a relativní růstovou rychlost) s vlastnostmi přirozených diploidů a tetraploidů. Dále autorka testovala akumulaci kadmia u přirozených diploidů a tetraploidů *V. cracca* a *C. phrygia* a reakci přirozených diploidů a tetraploidů *V. cracca*, *C. phrygia* a *Knautia arvensis* na stres způsobený suchem a zastíněním. K zvládnutí problematiky musela autorka prostudovat množství literatury, což se odrazilo v poměrně kvalitně zpracovaném literárním úvodu. Musela zvládnout i značné množství technik. Vzhledem k celkové, mj. i časové náročnosti, však nebylo možné jednotlivé body detailně zpracovat, i když v součtu autorka odvedla velké množství práce. Již samotné vytvoření spolehlivých neotetraploidů by vydalo na kvalitní samostatnou práci a navíc by připravilo půdu pro další zajímavý výzkum. Kromě toho odevzdaná diplomová práce nese negativní stopy hektického dokončování. Ve výsledku tak práce působí značně roztržštěně a kapitoly mají velmi rozdílnou úroveň. V diskusi se příliš opakují výsledky a další pasáže na úkor zhodnocujícího komentáře autorky; dále viz technické poznámky a věcné otázky. Body a) až d) hodnocení jsou uspokojivě splněny. K prezentaci a celkové interpretaci výsledků nemám zásadní výhrady vyjma bodu 3 v Závěrech na str. 80. Vzhledem k výrazné převaze aneuploidů mezi „neotetraploidy“ se domnívám, že pomalejší klíčení „neotetraploidů“, je následkem aneuploidie, jak připouští i sama autorka, nikoli následkem evoluce, což je navrhováno jako první možnost.

Věcné otázky:

- 1) V literárním úvodu se autorka zmiňuje o vyšší genetické variabilitě polyploidů. Prosím, aby přehledně popsala vznik této variability, osvětlila roli allopolyploidie a mutací, která je v textu poněkud opominuta.
- 2) V literárním úvodu se mluví o různé reakci diploidů a tetraploidů na stres vyvolaný suchem a zastíněním, ale nehovoří se o tom, jak obecně rostliny těmto stresům čelí; prosím o krátké vysvětlení.
- 3) Pro měření stresu vyvolaného suchem a zastíněním bylo zvoleno měření fluorescence chlorofylu. Proč byla vybrána a použita zrovna a pouze tato metoda?
- 4) Proč musel být kolchicin aplikován na 10 dní staré semenáčky (str. 36)? Nebylo by s ohledem na velikost semenáčků *V. cracca* vhodné ho aplikovat dříve? Jaké postupy byste obecně navrhovala pro zvýšení úspěšnosti tvorby neotetraploidů?
- 5) V jakých podmínkách probíhal test rychlosti růstu a klíčení? Lze porovnávat rychlosti růstu semenáčků, které se objevily v různou dobu?

- 6) Proč byl zařazen Graf 5 - Rozdíl v délce průduchů u aneuploidních jedinců vztažený k hodnotám jejich relativní fluorescence, resp. proč se domníváte, že by mohl být vztah mezi délkou průduchů a fluorescencí „neotetraploidů“?
- 7) Prosím o vyjasnění náhrady semenáčů *C. phrygia* v pokusu s kadmíem. Na str. 41 se v Metodice píše, že „nově vypěstovaní diploidi museli být použiti již při cca poloviční velikosti tetraploidů“, ve Výsledcích se problém náhrady semenáčů neřeší, v Diskusi se píše, že „Vliv ploidie na akumulaci kadmia se projevil pouze u listů druhu *Centaurea phrygia* po 2, 6, 10 a 14 dnech působení. To přesně odpovídá odběrům, kde byli dobře vyvinutí jedinci nahrazeni třemi malými rostlinami. Menší rostliny zřejmě přijali více kadmia intenzivnějším čerpáním živin z média kvůli růstu než větší rostliny, které už měli pro další růst menší prostor“ a v Závěrech je uvedeno, že „Rozdíl v akumulaci kadmia se projevil pouze u listů druhu *Centaurea phrygia*, kdy více kadmia přijímali diploidi. Tento výsledek byl však pravděpodobně způsoben odlišným stářím diploidních a tetraploidních rostlin použitých v pokusu.“
- 8) Prosím, vysvětlíte, proč bylo nutné v témže pokusu namnožit rostliny *V. cracca* řízkováním a jak toto množení mohlo ovlivnit variabilitu odpovědi druhu.
- 9) Prosím, specifikujte podmínky pokusného stresu suchem a zastíněním ve vztahu k přirozenému prostředí jednotlivých druhů.

Technické poznámky:

- V klíčových slovech by měla být jména studovaných druhů, výrazy chromozomové počty, průtoková cytometrie, ploidní úroveň
- V první větě úvodu i dále v textu se mylně uvádí, že „Polyploidie je zdvojením celého genomu“
- Text v metodice na str. 35 vytváří dojem, že byli použiti jedinci z 6-7 populací pro každý druh, ale při pohledu na obrázek v příloze 2 se zdá, že pro každý druh byly použity max. 3 populace (v obrázku není navíc u 2 druhů rozlišeno, zda se jedná o populace diploidní nebo tetraploidní), na straně 40 se píše, že „byla vyseta semena z několika populací“; není tedy jasné, kolik a jakých semen autorka práce použila pro jednotlivé experimenty, což kontrastuje s podrobným popisem, co sebral pokročilejší spolužák.
- Postrádám alespoň stručný popis druhů s uvedením jejich typických biotopů, což je důležité ve vztahu k použitému stresu, dále popis rozmnožovacích systémů, což je důležité pro vytvoření 2. generace neopolyploidních rostlin, i popis lokalit sběrů.
- V metodice na str. 38 by bylo vhodné nadpisem zdůraznit, že se údaje vztahují k rychlosti klíčení a růstu a že se týkají pouze *V. cracca* (což by mělo být zdůrazněno i u měření průduchů). Text působí dojmem, že každé semeno z celkem 93 bylo zasazeno do květináče 10x10 cm – bylo tomu skutečně tak? Není uvedeno, kde a za jakých podmínek pokus probíhal, což je velmi důležité s ohledem na to, že semena tetraploidů byla vyseta znovu a byla srovnávána rychlost růstu semenáčů ze semen vyklíčených v různé době po zasetí. Bylo by velmi žádoucí propojení na text na str. 40 kap. 4.1.6.2.
- Uniká mi smysl zařazení Tabulky 1 na str. 39, když jsou stejné údaje uvedeny spolu s chromozomovými počty v Tabulce 13 na str. 5. Tabulky nejsou jednotně popsány: někde

se vyskytuje relativní fluorescence (Tab 1, 6, 9, 11, 13), jinde poměr ke standardu (Tab 5, 7, 8, 10, 12).

- V kp. 4.2 není uveden počet použitých semen ani rostlin.
- Popis studia stresu suchem a stínem je nedostatečný; není uvedeno, kde a v jakém substrátu byly rostliny pěstovány, ani jak bylo jednotlivých stresů docíleno.
- V kp. 5.1.3 by mělo být uvedeno, že se týkají pouze *V. cracca*.
- Vzhledem k tomu, že výsledky počítání chromozomů naznačují, že většina rostlin získaných pomocí kolchicinu, nebyli skuteční tetraploidi, ale rostliny s jiným počtem chromozomů, bylo by na místě uvádět termín neotetraploidi v uvozovkách nebo tento fakt jinak zdůraznit.
- Grafy 18-21 mají původní popisy ze statistického programu; autorka je patrně již nestíhala jakkoli upravit.
- V závěrech na str. 80 v bodě 3 je uvedena místo rychlosti klíčení růstová rychlost, ve které se různé ploidie na rozdíl od rychlosti klíčení nelišily.

Přes výše uvedené výhrady lze konstatovat, že práce splňuje potřebná kritéria, a proto ji doporučuji k obhajobě. Navrhuji hodnocení „dobrá“.

V Průhonicích 20.8. 2014

RNDr. Hana Skálová, CSc.