

Posudek na diplomovou práci Jana Rydla – Ekologické důsledky polyploidizace u mokřadní rostliny šmelu okoličnatého (*Butomus umbellatus*)

Vyhotovil: Pavel Trávníček

Předkládaná práce si klade za cíl odhalit vliv polyploidizace na stanovištní preference, morfologickou variabilitu a způsob rozmnožování jednotlivých cytotypů šmelu okoličnatého (*Butomus umbellatus*). Nedílnou součástí práce je i cytogeografická studie zájmového území Východoslovenské nížiny a podrobné zmapování cytotypů ve vybraných cytotypově smíšených populacích. Vytčené cíle jsou jasně formulovány a navzdory nepřízni osudu (dvě velmi suché sezóny) byly víceméně i naplněny. Úvodní část je napsána stručně a výstižně a nezabíhá do zbytečných detailů. V metodické části se stručnost a účelnost psaní poněkud vytrácí a jsou zde i některé věcné nepřesnosti. Výsledky jsou zpracovány zdařileji, ale i zde mám pár výtek. V diskusi se naplno projevil pravděpodobný nedostatek času při dokončování DP a shledávám ji poněkud za očekávání, zejména co se týče zasazení zkoumaného problému do širších souvislostí. Celkově je na práci bohužel až příliš vidět, že je psána horkou jehlou, a dovolím si vyjádřit pochybnost, zda odevzdanou verzi školitel či některý z konzultantů četl. Jinak si nedokážu vysvětlit takové množství překlepů, chybějících písmen či větných torz. I přes veškeré nedostatky považuji práci za hodnou obhajoby a hodnotím ji stupněm velmi dobře.

Konkrétně mám k práci následující připomínky:

- 1) V úvodu je nastíněno, že je z literatury známa distribuce cytotypů ve střední Evropě nicméně schází mi zde konkrétnější údaje o tom, jaký byl počet analyzovaných populací, jedinců a jaká metodika studia. Lze předpokládat, že šlo čistě o karyologický výzkum, který je mnohdy limitován počtem zahrnutých jedinců, a je třeba zjištěné závěry brát s rezervou. O jak robustní data se opírají výchozí předpoklady této DP?
- 2) V závěru úvodu je pasáž o možnostech studia genetické diverzity, kterou shledávám zbytečnou, neb nejde o nic jiného, než o opakování notoricky známých výhod analýzy mikrosatelitů ze základních kurzů populační genetiky.
- 3) V metodické části (potažmo ve výsledcích) velmi silně postrádám přehlednou tabulku toho, kolik rostlin bylo sebráno pro všechny typy analýz z konkrétní populace. Tuto informaci lze dohledat jen pro morfometrickou analýzu a to ještě dosti krkolomným způsobem z tabulky 10. U kolika rostlin z té které populace byla např. stanovena ploidie se nedozvíme nikde.
- 4) V metodice průtokové cytometrie je buď chybně uvedena velikost standardu *Bellis perennis*, nebo konkrétní citace. Taktéž označení přístrojů, na kterých byla stanovena ploidie, je chybné.
- 5) U vývoje mikrosatelitových primerů bych uvítal, kdyby byly zahrnuty i rostliny z jiných oblastí než z Východoslovenské nížiny.
- 6) V morfologické části bych uvítal doplnění o další rostliny z oblastí, kde nejsou cytotypově smíšené populace, protože srovnání posunu morfologických znaků v obou typech populací (ploidně uniformních i ploidně heterogenních) by mohlo být velmi zajímavé pro vyvozování některých závěrů.
- 7) Výsledky cytotypové struktury smíšených populací se omezují na slovní popis a chybí zde reálné výsledky statistických testů.
- 8) Na str. 41 je uvedeno tvrzení, že: „... šířka okvětního lístku v případě rostlin z přírody nehrála téměř žádnou roli“, což zcela evidentně není pravda, neboť dle Tab. 4 a 3 jde o druhý nejdůležitější znak pro rozlišení obou cytotypů jak v kultuře, tak v přírodě.
- 9) Nedílnou součástí podobně laděných DP bývá i test použitelnosti měřených morfologických znaků pomocí klasifikační analýzy. Proč zde taková analýza chybí a je zde uveden pouhý odhad ca 80% úspěšnosti zařazení ke správnému cytotypu? Ten je sice podložen „terénní zkušeností“ a je pravděpodobně relevantním odhadem, ale přesto by zde klasifikační analýza neměla chybět.
- 10) Kvituji snahu podchytit morfologické znaky, které se mění po přesazení rostlin do jednotných podmínek, a srovnat, zda-li zůstávají zachovány objevené morfologické rozdíly mezi cytotypy.

Nicméně si nejsem jist, zda je možné tyto změny srovnávat pomocí diskriminační analýzy, kde kombinace ploidie (2x vs. 3x) + původ rostlin (přírozená populace vs. kultura) tvoří čtyři 'nezávislé' skupiny, když se jedná vždy o dvojí měření téhož jedince (při vykopání v populaci a po ca roce pěstování). Bylo by asi lepší srovnávat posun znaků v rámci ploidie.

11) Nepochopil jsem, z jakého důvodu je počet cytometricky analyzovaných semenáčků z diploidních rostlin omezen na stejný počet jako z málo plodných triploidů. Přejde mi velká škoda, že semenáčků z diploidních rostlin nebylo analyzováno více, a to i z čistě diploidních populací, aby se podchytil potenciální vznik triploidů de novo.

12) Nepřipadá mi příliš šťastné do pilotní studie testující reprodukovatelnost, variabilitu a použitelnost vyvinutých mikrosatelitů pro populační studie zahrnout pouhých 14 jedinců ze 14 různých populací. Co bylo hlavní příčinou zahrnutí tak malého počtu jedinců? A proč nebylo zahrnuto do testovacího vzorku více jedinců z téže populace?

13) V diskusi postrádám jakýkoliv pokus o srovnání s podobně laděnými studiemi na jiných taxonech. Celá diskuse se omezuje na zasazení zjištěných závěrů do kontextu toho, co je známo o šmelech, což mi přijde trochu škoda.

K diplomové práci mám tyto doplňující otázky:

1) Z úvodní části DP je zřejmé, že do této doby nebyla v oblasti střední Evropy známa žádná cytotypově smíšená populace šmelu. Sice chápu argumentaci, proč byla pro podrobný výzkum zvolena oblast Východoslovenské nížiny, ale nemůžu se nezeptat, proč například cytotypový screening neproběhl v menší míře i v jiných oblastech s vyšším zastoupením populací šmelu? Lze předpokládat, že cytotypově smíšené populace existují i jinde? Na základě jakých dat nebyla dosud existence cytotypově smíšených populací objevena?

2) Při analýze stanovištních preferencí jednotlivých cytotypů pomocí RDA bylo z důvodů malého množství čistě diploidních populací přikročeno k tomu, že jakákoliv populace s výskytem diploidů byla brána jako jiná skupina než homogenní triploidní populace. Tento přístup je z určitého úhlu pohledu pochopitelný, ale vyvstává otázka, zda taková analýza může něco o studovaných cytotypech říci, když skupina populací s diploidy byla téměř z 80 % tvořena smíšenými populacemi. Podle toho také vyšla míra vysvětlené variability spojené s ploidním stupněm pod úrovní 2 %. S tímto výsledkem souvisí i otázka, proč nebyl datový soubor rozšířen i o další, zejména diploidní, populace z jiných oblastí?

3) V diskusi je poměrně dlouze pojednáván rozdíl mezi cytotypy ve způsobu rozmnožování – vegetativní vs. generativní – a je diskutováno, zda triploidní jedinci mohou zpětně tvořit diploidy a reprodukovat samy sebe. Odhlédnu-li od toho, že bylo zanalyzováno po čertech malé množství semenáčků k tomu, aby bylo možné vyslovit jakékoliv hodnověrné názory, přesto by mne zajímal alespoň kvalifikovaný odhad, v jaké míře lze očekávat vznik diploidů z triploidních matek a za jakých podmínek? Kterému cytotypu by pak byl takový diploid morfologicky podobnější? V této souvislosti by bylo velmi zajímavé vyzkoušet i přímou cytometrickou analýzu semen (souběžné ověření ploidie embrya a endospermu) a z ní odvodit, jakým způsobem konkrétní semeno vzniklo. Byl učiněn alespoň pokus o tuto analýzu?

4) Asi nejzajímavější otázkou spojenou s výskytem dvou cytotypů šmelu není ani tak možnost jejich koexistence, ale spíše původ triploidního cytotypu a skutečnost, že tento cytotyp převládá. Chápu, že je to komplikovaná otázka a není snadné na ni odpovědět, přesto by mne ale zajímal autorův názor na to, zda triploidní cytotyp vznikl jednou (nebo několikrát) v minulosti a postupně nahrazuje cytotyp diploidní, a nebo jsou triploidi stále znovu vytvářeni z jedinců diploidních? Byl vůbec někdy pozorován výskyt triploidních semen, semenáčků v jinak čistě diploidních populacích?