

## Oponentský posudok na diplomovú prácu Zuzany Vlčkovej:

„Reprodukční izolace diploidů a tetraploidů druhu *Vicia cracca* a možnosti evoluce tohoto agregátu“

Predkladaná diplomová práca, ako napovedá samotný názov a stanovené ciele, **by sa mala venovať** dvom aspektom v evolúcii komplexu *Vicia cracca*, a to rozsahu reprodukčných bariér medzi diploidným a tetraploidným cytotypom a vzniku tetraploidných cytotypov a cytotypov so zmenšeným základným chromozómovým číslom v komplexe *V. cracca*. Keďže obe problematiky sú pomerne odlišné z metodologického hľadiska, rozoberiem ich osobitne s dôrazom na problematické alebo inak nejasné časti v podobe otázok – pripomienok, ktoré som však v tomto posudku zďaleka nevyčerpal.

Celkovo však možno konštatovať, že

1, práca, minimálne v druhej časti, nespĺnila stanovené ciele, resp. sa zdá, že nedošlo ani k nejakému intenzívnejšiemu pokusu k ich riešeniu;

2, časť metodík, ktoré sa uvádzajú ako použité v časti metodika, zrejme použité vôbec neboli, konkrétne - GISH. Z tohoto pohľadu sa natíska otázka, jednak na uchádzačku a jednak na školiteľku, prečo bola do diplomovej práce zahrnutá časť, ku ktorej nie sú žiadne, resp. takmer žiadne výsledky a je vlastne v počiatočnom štádiu rozpracovania, resp. ani to nie?

3, pôvod rastlín zahrnutých do pokusov, pozorovaní a analýz je nejasný. Niekedy sa jedná len o kódy bez uvedenia pôvodných lokalít a dátumu zberu, niekedy (*V. tenuifolia*, *V. dalmatica*) nie je uvedené nič k pôvodu materiálu.

4, výsledková časť je prezentovaná často veľmi stroho, bez žiadneho slovného komentára, či interpretácie;

5, diskusia nie je zďaleka úplná. Časť výsledkov nebola vôbec diskutovaná ako napr. pokusné kríženie, či ploidia potomstva v umelých zmiešaných populáciách, resp. prítomnosť aneuploidie. Viac menej dostatočne sa autorka venuje len časti týkajúcej sa fenológie a opelenia opelovačmi.

### Pripomienky k jednotlivým častiam práce

#### Reprodukčné bariéry

Autorka si položila 5 otázok týkajúcich sa 1, prípadného rozdielu vo fenológii oboch cytotypov; 2, morfológických rozdielov medzi cytotypmi; 3 a 4, rozdielu v produkcii nektáru a peľových zŕn (množstva a veľkosti); 5, frekvencie vzniku krížencov medzi oboma cytotypmi.

Na zodpovedanie týchto otázok autorka použila prietokovú cytometriu semien a semenáčikov, meranie peľu a produkciu nektáru, umelo krížila diploidy a tetraploidy. Na základe týchto dát autorka vypočítala rozsah celkovej, ale aj čiastkových bariér medzi cytotypmi.

Otázky:

1. Z ôsmich párov rastlín zahrnutých do umelého kríženia (homoploidné aj heteroploidné páry), autorka na str. 49 vo výsledkoch uviedla, že „Pokus sa nepodaril, po opelení nevznikli semená, ktoré by som mohla analyzovať“. Keďže v diskusii sa k tomuto bodu vôbec nič nepíše, zaujímalo by ma, prečo z kríženia nevzišlo ani jedno dobré semeno, a to aj z kríženia medzi diploidnými a medzi tetraploidnými rastlinami, kde nie je riziko reprodukčnej bariéry.

2. V súvislosti s umelým heteroploidným krížením, mohla by autorka vysvetliť prečo zopakovala tento pokus, ak v časti úvod str. 16 píše, že predchádzajúci pokus Eliášovej vyšiel negatívne?

3. V tabuľkách 5 a 6 autorka uvádza, že tetraploidy tvorili, hoci v malom percente prípadov, aneuploidy. Zaujímalo by ma, akým spôsobom dospela diplomantka k tomu, že sa jedná o aneuploidy.

4. Autorka zistila, že niektoré diploidné rastliny z umelo vytvorenej a cytotypovo zmiešanej populácie tvorili v roku 2011 aj tetraploidné potomstvo. Mohla by uchádzačka objasniť akým spôsobom mohli 4x rastliny vzniknúť? Je to dosť významné zistenie z pohľadu celej práce, ktoré však nie je diskutované v časti diskusia, či rozvedené v časti výsledky. Je to len jedno číslo v tabuľke.

5. V súvislosti so zrejme nevhodným dizajnom rozmiestnenia kvetináčov v opeľovacom pokuse (obr. 4, str. 18), čo konštatuje aj samotná autorka práce na str. 42, by ma zaujímalo, ako by malo vyzeráť rozmiestnenie kvetináčov, aby boli vzdialenosti medzi kvetináčmi „kóšer“.

6. V tabuľkách opeľovačov str. 36 bola väčšina návštevníkov kvetov na lokalite Budča určená do druhu, kým na lokalite Průhonice boli všetky opeľovače určené len do rodov alebo radov. Prečo?

7. Uchádzačka zistila, že počet peľových zŕn je signifikantne väčší u zrastených tyčiniek ako u voľných tyčiniek u diploidov, kým u tetraploidov tomu tak nie je. Má na to uchádzačka nejaké vysvetlenie?

8. Čo je to termín „AC“ vo vzorci na výpočet celkovej reprodukčnej izolácie? Ako ho možno vypočítat?

### **Pôvod polyploidov a redukovaného základného chromozómového počtu v sekcii *Cracca***

Ohľadne druhej problematiky sa autorka pýta, či: 1, tetraploidný cytotyp *V. cracca* je autopolyploid alebo allopolyploid; 2, či tetraploidný cytotyp *V. tenuifolia* je autopolyploid alebo allopolyploid; 3, a konečne či *V. dalmatica* a *V. incana* vznikli centromérickou fúziou dvoch párov chromozómov *V. cracca* ako navrhol jeden taliansky autor v 70. rokoch min. stororčia.

Autorka na strane č. 12 a 13 uvádza, že na zodpovedanie týchto otázok používa metódy in situ hybridizácie, konkrétne GISH a FISH.

Vo výsledkoch na str. 40, je prezentovaný jeden obrázok metafázy FISH diploidného cytotypu *V. cracca*, s tým že „táto časť práce je stále v stave optimalizácie“.

Ako výsledky sú prezentované izolácie DNA od študovaných druhov. V Diskusii je táto časť spomenutá tromi riadkami s tým, že autorka pripravila jeden roztlak a že metóda vyžaduje ďalšiu optimalizáciu.

Otázky:

Mohla by uchádzačka objasniť ako prebiehala táto časť práce? Konkrétnejšie, koľko roztlakových preparátov z akých druhov bolo pripravených na FISH? Prečo je prezentovaný len jeden roztlak (z kontextu vyplýva, že bol urobený len jeden)? Prečo nedošlo k realizácii GISH analýz?