

Posudek diplomové práce Zuzany Vlčkové

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

Jedná se o opakovanou obhajobu diplomové práce. Vzhledem k tomu, že předkládaná práce se na 99% shoduje s prací předloženou před rokem, následuje můj posudek napsaný v září 2014 (na rozdíl od loňské verze je v textu vložen loni chybějící abstrakt a úvod obsahuje jeden nový odstavec).

„Cílem práce bylo popsat reprodukčně-isolační mechanismy mezi diploidními a tetraploidními cytotypy druhu *Vicia cracca*. Druhým cílem bylo za pomoci *in situ* hybridizace popsat vztahy v rámci agregátu *Vicia cracca*. Zuzka sebrala dostatečné množství dat pro první část práce. Druhá část práce zůstala pouze v počátcích. To není zásadní problém, neboť i první část sama o sobě je tématem pro diplomovou práci. V rámci první části sebrala Zuzka data o řadě faktorů zodpovědných za možnou izolovanost mezi cytotypy. Sebraná data jsou však trochu minimalistická – např. data o fenologii pouze z jedné sezóny, data o velikosti a počtu pylových zrn z relativně malého počtu rostlin. Některé části jako zkřížené opylení mezi ploidiemi nemají výsledky žádné. Na jednu stranu uznávám, že křížení vikví není snadné, na druhou stranu Zuzka do pokusů neinvestovala příliš mnoho energie a pokud by se s pokusem začalo dříve než v červnu 2014, byla by větší šance najít řešení na vzniklé problémy. Minimalistický přístup k práci je patrný i z nakonec neúspěšné druhé části, kdy po počátečním nadšení Zuzka polevila a nevyužila ani již dohodnuté stáže na Universitě v Leicesteru. Též diskuze práce je poměrně úsporná a obsahuje pouze malé množství citací umožňující srovnání s vlastními získanými daty.„  
KONEC CITACE LOŇSKÉHO POSUDKU

Vzhledem k tomu, že mám k dispozici i oponentský posudek na práci od Jany Jersákové z roku 2014, dovoluji si okomentovat změny v textu z pohledu tohoto posudku. Níže jsou uvedeny všechny námítky oponentky a za \*\*\* komentuji, jak se s nimi studentka vypořádala. V souhrnu lze říct, že až na 2 drobné výjimky uvedené níže loňské připomínky autorka zcela ignorovala.

„Text na mě působí dojmem, že byl zpracován na poslední chvíli a proto obsahuje řadu nekonzistencí a nedopracovaných částí.

\*\*\* stále platí

Autorka projevila v úvodu i diskuzi vcelku dobrou orientaci v literatuře týkající se reprodukční izolace polyploidních rostlin, ale vzhledem k její omezené existenci měla sáhnout i po jiné literatuře týkající se reprodukčních bariér sympatrických nepolyploidních druhů.

\*\*\* Seznam literatury je mezi pracemi shodný žádná nová práce nepřibyla.

Vytyčené cíle práce týkající se hybridizace *in situ* zůstaly nesplněné a z práce se nedozvíme, proč se tak stalo.

\*\*\* Text o *in-situ* hybridizaci je identický a k žádnému vysvětlení tedy nedošlo.

Diskuze pak diskutuje jen část zjištěných výsledků.

\*\*\* Text je prakticky identický, k žádnému rozšíření nedošlo.

**Úvod** práce je členěn na dvě části. První se zabývá popisem reprodukčních bariér, které dělí na prereprodukční (před opylením) a postreprodukční. Pokud ovšem za generativní reprodukci rostlin považujeme tvorbu semen a tedy vznik zygoty, nelze prereprodukční bariéru ukončit procesem opylení, nýbrž procesem oplození. Bylo by vhodnější, kdyby autorka zvolila jasně vymezené termíny pre- a postzygotické bariéry, čímž by se vyhnula nekonzistenci v přiřazení konkrétních bariér k jednotlivým typům.

\*\*\* V úvodu byly termíny ve velké většině opravdu změněny. V diskuzi se termíny nevyskytují, v závěru je zachován původní stav.

Např. v obr. 1 má uvedenou mechanickou izolaci tvořenou stavbou květů až za opylením, tato bariéra ale brání přenosu pylu, působí tedy před opylením.

\*\*\* Stále platí

Autorka v kapitole popisuje funkci a význam jednotlivých bariér, ne vždy se ale drží správného členění. Např. uvádí sílu potřebnou k otevření květu jako jednu z bariér odděleně od stavby květu, přestože se obě řadí k mechanické izolaci.

\*\*\* Před odstavcem o potřebné síle byl přidán krátký odstavec o morfologii květu, Odstavce ale nebyly nijak propojené.

Autorka v literární rešerši používá více méně veškerou dostupnou literaturu týkající se reprodukční izolace u polyploidních rostlin, avšak málokdy se ji pokusí nějakým způsobem syntetizovat, generalizovat. Např. u fenologie polyploidních druhů se dozvíme, jakých výsledků jednotlivé studie dosáhly, ale nedovíme se, zda panuje nějaký obecný trend v tom, že by např. vyšší ploidie kvetly obecně později. *Dá se nějaký takový obecný trend z fenologie polyploidů odvodit?*

\*\*\* Do textu přibyla jedna krátká shrnující věta.

Autorka zmiňuje existenci prostorové izolace, ale nijak dál s ní v úvodu nepracuje. Myslím, že by bylo vhodné popsat primární a sekundární vznik hybridních zón. Např. Petit et al. 1999 ve svém review v TREE kvantifikují prezygotické mechanismy u různých druhů a ukazují, že prostorová izolace je stejně častá jako fenologická izolace. *Jakým způsobem vznikají hybridní zóny u polyploidních rostlin nejčastěji, tj. primárně či sekundárně?*

\*\*\* Nic zásadního na toto téma do textu přidáno nebylo

U popisu chování opylovačů autorka předkládá výsledky různých studií, ale *co tedy vybízí opylovače k tomu, aby se choval nenáhodně? Jaké květní signály mohou podpořit vznik etologické izolace?* Studii Husband & Schemske 2000 by bylo vhodnější nahradit studií Kennedy et al., která dospěla k podobným závěrům, ale mimo jiné kvantifikovala přenos pylu mezi cytotypy a vysvětlila proč opylovači častěji navštěvují 4x – spektrum opylovačů bylo shodné, ale různí opylovači vykazovali různou míru věrnosti cytotypu.

\*\*\* Nebylo zohledněno.

Celkově bych si úvod představovala lépe strukturovaný, jdoucí více k meritu věci bez zbytečné omáčky, na kolika jedincích bylo co měřeno. Autorka také mohla sáhnout po literatuře týkající se reprodukčních bariér mezi sympatricky rostoucími nepolyploidními druhy, která by se jí hodila např. v části o nektaru či asortativním chování opylovačů.

\*\*\* Úvod zůstal téměř beze změny.

**Metodická část** je napsaná srozumitelně, přesto k ní mám několik poznámek. Např. Při pozorování opylovačů obvykle uvádíme souhrnný počet hodin, po které bylo pozorování prováděno

\*\*\* informace stále chybí

kapitola Produkce a složení nektaru by měla vynechat v názvu složení, protože tím se autorka vůbec nezabývala

\*\*\* stále platí

u kapitoly Velikost pylových zrn není jasné odkud autorka vzala material

\*\*\* stále platí

podobně u kapitoly Umělé křížení není jasné, kde byl pokus proveden.

\*\*\* stále platí

U in situ hybridizace chybí informace o tom, pod čím se prohlíží připravené preparáty.

\*\*\* stále platí

U analýzy dat chování opylovačů mám výhrady ke zpracování dat. Autorka použila pokus s pravidelným rozmístěním cytotypů a kvantifikovala počty přeletů mezi ploidiemi. Jak sama správně uvádí v diskuzi, tohle uspořádání může vést k nadhodnocení přeletů mezi různými cytotypy, což se také zjevně v její práci stalo. V takovém případě měla vydělit počet mezicytotypových přeletů 2, čímž by zjistila, že se jejich počet neliší od přeletů mezi stejnou ploidií.

\*\*\* stále platí

Vhodnější přístup ke sledování a vyhodnocení dat chování opylovačů je práce s jednotlivými jedinci hmyzu, u kterých sledujeme sekvenci navštívených rostlin. Z takových dat můžeme zjistit věrnost konkrétních jedinců, tj. frekvenci přeletů mezi cytotypy a v rámci cytotypů, a jejich vliv na přenos pylu. Domnívám se, že autorka taková data nasbírala, ale plně nevyužila jejich potenciál. Např. autorka zjistila u čmeláků a pískorypek preference pro jeden či druhý cytotyp, ale už se nepodívala na to, jak moc specifictí byli jednotliví jedinci ve svých přeletech a jak často docházelo k přenosu mezi cytotypy. Čmeláci z jednoho hnízda často navštěvují odlišné druhy rostlin, protože se mezi sebou nedomlouvají o potravní nabídce jako včely. Pokud má autorka řadu pozorování pro každého jedince, mohla spočítat index preference/věrnosti pro každého z nich a ty pak statisticky vyhodnotit.

\*\*\* stále platí

Na straně 30 autorka prezentuje hypotézy 5 a 6. *Jak se tyto dvě hypotézy od sebe liší?*

\*\*\* stále platí

**Výsledky** jsou prezentovány celkem přehledně s drobnějšími formálními nedostatky v popisu tabulek. V metodice si autorka vytyčila u chování opylovačů 6 očíslovaných hypotéz, ve výsledcích čísluje jen tři z nich.

\*\*\* stále platí

U pokusu s umělým křížením píše, že se pokus nepodařil, protože po opylení nevznikla žádná semena. Autorka se mohla pokusit identifikovat důvody, proč žádná semena nevznikla. *Špatně rostliny opylovala? V metodice autorka píše, že plody sebrala a analyzovala průtokovou cytometrií, což je v rozporu s tím, že se žádná semena nevyvinula.*

\*\*\* stále platí

Autorka v rámci výsledků prezentuje jeden roztlak chromozomů s tím, že zbytek práce na hybridizaci *in situ* je v optimalizaci. Vzhledem k tomu, že autorka nepopsala ani ve výsledcích ani v diskuzi, o co všechno se pokusila, co nefungovalo a jak by se to pokusila řešit, nezbyvá než hodnotit vytyčené cíle diplomové práce týkající se této metody jako nesplněné.

\*\*\* stále platí

V **diskuzi** mi chybí už výše zmíněné části týkající se nepovedeného ručního opylování a *in situ* hybridizace, které by nastínily proč se pokusy nepovedly a jak je optimalizovat. Autorka sice píše, že postup *in situ* hybridizace upravila, ale nedozvíme se jak. Také zde zcela chybí diskuze k analýze ploidie semen a semenáčků, která by se týkala postzygotických mechanismů a mechanismů vzniku hybridů a aneuploidů.

\*\*\* stále platí

U chování opylovačů autorka zmiňuje, že se čmeláci a pískorypky nechovali náhodně. To se však stalo pouze v jedné populaci ze dvou. Autorka své výsledky dává do kontrastu s prací Jersáková et al. 2010, ale v této studii byly indexy preference a věrnosti počítány nejprve pro každého jedince opylovače zvlášť a poté testovány – viz moje připomínky ke zpracování dat.

\*\*\* stále platí

**Závěry** trpí opět nevhodným členěním typů bariér, kdy řadí mechanickou izolaci do postreprodukčních bariér. Závěry diskutují důvody omezeného vzniku triploidů s literaturou, což by se mělo dít v diskuzi, kde právě tato problematika zcela chybí. Autorka píše, že vývin triploidů omezují bariéry gametické izolace či snížené vitality zygoty či semenáčku.

\*\*\* stále platí

**Následuje 10 formálních nedostatků uvedených Janou Jersákovou. Všechny tyto nedostatky bez výjimky stále platí, jak je uvedeno ve výčtu níže.**

Autorka mohla také zmínit novou studii Gao et al. 2014 v Plant Biology ukazující dvojnásobné množství nektaru u 4x než 2x.  
\*\*\* stále platí. Stejně jako v předchozí verzi je tato citace v seznamu literatury, ale není zmíněna v textu.

Anglický termín review lze přeložit českým slovem literární rešerše.  
\*\*\* stále platí

Několikrát v textu je chyba ve jméně autora Schemske (např. str. 8, 10).  
\*\*\* stále platí

Větu nikdy nezačínáme zkratkou latinského názvu.  
\*\*\* stále platí

Tabulky 5 a 6 – nejsou konzistentní z hlediska velkých písmen na začátku slov  
\*\*\* stále platí

U analýzy reprodukční izolace autorka prezentuje vzorec s parametry A a C, ale nikde není patrné, co tyto parametry znamenají.  
\*\*\* stále platí

Popisy tabulky 9 a 10 výsledků chování opylovačů nejsou samovysvětlující – test selekce cytotypů a atraktivity cytotypů není jasný. Autorka mohla použít své číslované hypotézy nebo test více vysvětlit.  
\*\*\* stále platí

Tabulka 13 – přehozené popisky v horním řádku, nejprve mají být o a pak e  
\*\*\* stále platí

Grafy – špatně čitelné, rozmazané  
\*\*\* stále platí

Literatura – v citaci Simpson a Neff 1983 chybí název kapitoly  
\*\*\* stále platí „, KONEC POSUDKU JANY JERSÁKOVÉ

**V roce 2014 jsem závěrem napsala. “Celkově práce splnila požadavky na diplomovou práci a doporučuji ji k obhajobě. Je ale nutné připomenout, že Zuzka zdaleka nevyužila svůj potenciál a předložená práce mohla být mnohem lepší. Práci navrhuji klasifikovat stupněm dobře.” Těž oponentka v roce 2014 navrhovala klasifikaci stupněm 3. Vzhledem k výše**

**uvedeným skutečností ale toto svoje shrnutí přehodnocuji a práci k obhajobě nedoporučuji. Domnívám se, že takto obhájená odborná práce opravdu vypadat nemá.**

Zuzana Münzbergová

školitel