

## Oponentský posudok na diplomovú prácu Kristíny Šemberovej:

„Populační struktura a fenotypová diferenciace *Campanula moravica*“

Predkladaná diplomová práca sa venuje štúdiu cytotypovej a morfolologickej premenlivosti troch zástupcov skupiny zvončeka okrúhlostého na území Česka a Slovenska, konkrétne druhom *Campanula moravica*, *C. gentilis* a *C. rotundifolia* a vplyvu duplikácie genómu u druhu *C. Moravica* s dvoma majoritnými cytotypmi a to tetra- a hexaploidný, na ich fenotyp.

Skupina *C. rotundifolia* je charakteristická veľkou fenotypovou variabilitou, ktorá je spôsobená značnou ekologickou plasticitou, mladým evolučným vekom skupiny, existenciou viacerých ploidných úrovní a možno aj medzidruhovou hybridizáciou. Takýto patern pochopiteľne vyúsťuje do problematického a nejednoznačného taxonomického hodnotenia.

Autorka použila metódu prietokovej cytometrie na analýzu cytotypovej variability a mnohorozmerné štatistické metódy na zistenie prípadnej morfolologickej diferenciácie medzi študovanými taxónmi či cytotypmi. Autorka zozbierala, cytometricky analyzovala a morfolologicky premerala ohromné množstvo rastlín z množstva populácií.

Za najdôležitejšie zistenia možno považovať: podstatné upresnenie výskytu rôznych cytotypov najmä v západnej časti študovaného areálu, opravy chybného stanovenia ploidii na viacerých lokalitách monografom rodu *M. Kovandom*, zistenie nových ploidii, vrátane aneuploidov a ploidne zmiešaných populácií. Morfometrická analýza potvrdila určitý stupeň diferenciácie hodnotených taxónov aj keď nie úplne jednoznačne, pretože ako dodáva autorka v záverečnej kapitole (str. 105) „väčšina znaku je navyše silne závislá na podmínkach prostredia, v němž se rostliny vyskytují“. Prácu hodnotím veľmi kladne, najmä čo sa týka kvantity zozbieraných dát, svedčiace o poctivo vynaloženom úsilí. Autorka použila vhodné metodické postupy, aj keď k niektorým postupom mnohorozmernej analýzy, hodnoteniu morfolologickej variability založenej na rastlinách zozbieraných v teréne a interpretácii výsledkov mám viaceré výhrady. Vzhľadom na tieto výhrady formulované formou otázok (nižšie), a vzhľadom na neexistenciu medziznámok v hodnotiacom systéme ČR, navrhujem predkladanej práci udeliť známku 2.

Otázky k predloženej práci:

1. Považuje autorka morfometrickú analýzu druhov, ktoré sú v literatúre označované ako problematické z hľadiska ich odlišenia kvôli značnej fenotypovej plasticite, založenú na rastlinách zbieraných v teréne, za vhodný prístup na zistenie prípadných rozdielov medzi potenciálnymi taxónmi?
2. Ako by mali znieť otázky – hypotézy, ktoré by si kládla autorka, ak by chcela testovať morfologické rozdiely medzi ťažko rozlíšiteľnými taxónmi so značnou fenotypovou plasticitou, ktoré by boli
  - (i) zbierané *in situ*
  - (ii) vypestované zo semien a kultivované za rovnakých podmienok?
3. Z hľadiska taxonomického, ktorú z dvoch otázok/hypotéz považuje autorka sa principiálnejšiu?
4. V kapitole Otázky na str. 8 si kladie autorka za cieľ zodpovedať otázku: Jaký vliv má genomová duplikace na fenotyp *C. moravica*? Vzhľadom na nejasné pozadie vzniku nielen tetraploidnej ale aj hexaploidnej *C. moravica* a celého komplexu *C. rotundifolia* (viď napr. prácu Roquet et al. 2008, Systematic Botany, kde *C. moravica* je uvádzaná ako sesterská skupina k *C. rotundifolia*, aj keď ja sám mám dôvodné obavy ohľadne správnosti učenia analyzovaného materiálu), je táto otázka položená správne?

5. Otázka k interpretácii / komentovaniu mnohorozmerných analýz. Str. 62, obr. 21, CDA plot. Z grafu diskriminačnej analýzy je zrejmy vizuálny trend oddelenia diploidov a hexaploidov, kým oddlíšenie tetra- a hexaploidov nie je vôbec jasné. Na prvý pohľad sú oba cytotypy morfológicky premiešané a podľa vizuálnej interpretácie CDA neodlíšiteľné. Prečo sa potom v texte komentujú znaky, ktoré prispievajú k odlíšeniu cytotypov? („Hlavnými znaky prispievajúcimi k odlíšeniu ...“).
6. Papilnatosť kalicha resp. tobolky sa považuje (cf. napr. určovacie kľúče ČR, SR) za jeden z najdôležitejších kvalitatívnych znakov na odlíšenie *C. moravica* a *C. gentilis* od *C. rotundifolia*. O tom, že je to tak, svedčia aj hodnoty korelačných koeficientov tohto znaku korelovaných s prvou diskriminačnou osou (viď napr. tabuľky 18, 21, a ďalšie), ktoré našla sama autorka. Tento znak je tak bez akýchkoľvek pochyb najlepším diskriminačným znakom. Preto nerozumiem, prečo tento znak nefiguruje v určovacom kľúči na str. 104, ktorý by mal byť najdôležitejším výstupom morfometrických analýz. Jeho vynechaním sa popiera zmysel otázky, ktorú si stanovila autorka práce v kapitole 1.1. Otázky: „Jaké morfológické znaky nejlépe odlišují jednotlivé druhy, případně jejich cytotypy?“ Papilnatosť chýba aj v diskusii na str. 99, 100, 102, 103. V tabuľke IV h, kde sa uvádza jednorozmerná štatistika znakov pre jednotlivé taxóny, tento znak zmizol úplne, podobne ako znak oddenie. Aká bola ich frekvencia?
7. Papilnatosť je v kapitole Metódy (str. 38) uvedená ako semikvantitatívny znak s nasledovným odstupňovaním: 1 (ano), 0 (ne), 2 (málo). Ak je to semikvantitatívny a ordinárny znak, kde záleží na poradí, prečo je takto nelógicky zadefinovaný? Bolo to takto analyzované aj mnohorozmernými prístupmi? Bol tento znak zaradený aj do klasifikačných analýz (spolu s odením) alebo nie?
8. Papilnatosť po tretie. Napr. na str. 58 a vo všetkých ostatných analýzach autorka vylúčila zo sekundárnych analýz dva binárne, najviac navzájom korelované znaky a to odenie byle a papilnatosť. Je teda papilnatosť znak binárny alebo semikvantitatívny? Prečo autorka vylúčila z analýz oba znaky, keď stačí len jeden, ak boli skutočne silno korelované? A aká silná bola ich korelácia? Korelačný koeficient chýba v Tab. 14, kde sa uvádza, že do analýz boli zaradené všetky znaky.
9. Autorka zistila (str. 99, dole), že na základe klasifikačných analýz takmer 70% jedincov bolo správne zaradených do 4x resp. 6x cytotypu *C. moravica*. Keďže analýzy boli robené na základe znakov zbieraných v teréne nerozumiem argumentácii, prečo by úspešnosť určenia cytotypu v teréne mala byť oveľa nižšia, ak samotné merané rastliny boli zbierané v teréne ... A oveľa nižšia ako čo?
10. Autorka v Diskusii na str. 96 uvádza, že vzácnosť génového toku medzi dvoma cytotypmi *Senecio carniolicus* môže byť spôsobený o.i. aj rovnovážnou selekciou (balancing selection). Mohla by autorka vysvetliť, akým spôsobom balancing selection zabraňuje toku génov medzi dvoma cytotypmi?
11. Technická otázka: prečo autorka použila až dva štatistické balíky a to SAS na diskriminačné a klasifikačné analýzy) a PAST na analýzu hlavných komponentov? Hoci som nikdy ani s jedným nerobil, predpokladám, že taký SAS musí obsahovať aj procedúru na výpočet hlavných komponentov.