



Posudek oponenta

na diplomovou práci Veroniky Valové na téma:

Biosystematická studie *Poa* sect. *Bolbophorum* ve střední Evropě.

Předložená diplomová práce se věnuje studiu (převážně) středoevropských populací zástupců *Poa* sect. *Bolbophorum*. Jedná se o velmi zajímavou skupinu trav, ať už z pohledu biologického nebo evolučního (živorodost, apomixie, polyploidie, hybridizace). Rozlišování jednotlivých taxonů je však mnohdy problematické (morfologická plasticita, nedostatek morfologických znaků), tudíž celé skupina vyžaduje detailní revizi s využitím moderních biosystematických metod.

Pokud jde o formální stránku, práce je členěna do obvyklých oddílů, kapitoly následují v logickém pořadí. Zvolené experimentální metody plně odpovídají stanoveným cílům práce. Studentka sama absolvovala několik terénních výjezdů a prakticky si vyzkoušela všechny základní biosystematické metody (morfometrická analýza, karyologie, FCM, molekulární analýzy).

Samotný text práce bohužel obsahuje řadu překlepů a stylistických chyb. Celkově práce působí, že byla dokončována narychlo a řadě věcí mohla být věnována větší pozornost. Dovolím si zmínit několik nejvýznamnějších chyb. Většina citací z kapitoly 3.2.1 (napočítala jsem devět) není uvedena v seznamu literatury. V textu se dále objevuje i nejednotný formát citací (např. *Henriod M. M. & Favarger C. 1987*; citace studií tří autorů: *Matzk et al. 2000*, *Doležel et al. 2007*, atd. vs. *Fischer, Oswald & Wagner 2008*), chybné je i číslování některých citovaných obrázků a příloh (např. první citovaná v textu je Příloha č.2). Na Přílohu č.3 není v textu odkazováno vůbec.

Největší slabinou práce je zpracování teoretické části a diskuze, které jsou napsány velmi stručně a povrchně. Rešeršní část práce se zabývá taxonomií, morfologií a představením jednotlivých taxonů *Poa* sect. *Bolbophorum*. S přihlédnutím k cílům práce, by byly vhodné i obecné kapitoly věnované způsobům reprodukce (sex, apomixie, viviparie), karyologické variabilitě (např. frekvence polyploidie v rámci rodu, sekce, výskyt aneuploidie, B chromozomy

apod.), případně i celkovému ohrožení a ochraně taxonů této sekce. V diskuzi se z části opakují informace z úvodu, případně jsou pouze více rozepsány výsledky. Do vlastní diskuze se autorka pouští jen v omezené míře, což je škoda, jelikož otázek, které by bylo možné diskutovat, je celá řada.

Z mého pohledu nebylo úplně šťastně zvoleno zaměření práce. Hlavním předmětem diplomové práce mělo být spíše objasnění původu a vymezení taxonu *P. crassipes*. K tomuto taxonu autorka shromáždila kompletní soubor dat. Navíc jeden z cílů práce, tj. „*Stanovení hlavních reprodukčních systémů u jednotlivých populací/taxonů metodou FCSS.*“, splnila jenom částečně, jelikož analyzovala právě pouze populace *P. crassipes*. Lipnici tlustonohé je navíc věnováno nejvíce prostoru i v diskuzi. Sama autorka v textu uvádí některá data týkající se *P. crassipes* za nejdůležitější výsledky (např. „*Nejdůležitějším pro tuto práci bylo zjistit chromozomový počet pro P. crassipes.*“ apod.)

K práci mám několik poznámek a připomínek (netřeba zahrnovat do diskuze obhajoby):

- V textu práce se na více místech objevuje slovo morfometrika (spíše slangový výraz), lépe v odborném textu používat morfometrická analýza.
- Abstract:
 - „*At the same time it was found that the Czech and Slovak populations of P. crassipes were separated from each other no different.*“ Věta nedává smysl.
 - „*The chloroplast section of TLF was used to...*“, správně např. The chloroplast region, chloroplast marker, chloroplast DNA trnT-trnL-trnF sequence data etc.
 - TLF, zde by se hodilo rozepsat, tj. trnT–trnL–trnF (TLF) nebo alespoň trnTLF
- Teoretická část:
 - obr.č.3: Příště zvolit světlejší pozadí pod písmena v rozích obrázků, jsou špatně čitelná.
 - Absence velkých písmen na začátcích vět, někde i teček na koncích vět u odstavců ekologie a rozšíření téměř u všech taxonů.
- Materiál a metody:
 - obr.č.8: Symboly populací příště větší, zároveň zvolit i jiné barvy u *P. alpina* a *P. molinerii*, odstíny zelené jsou si velmi podobné a symboly se lehce ztrácí na pozadí.
 - Tabulka č.1: Není patrné (ani nikde v textu) kolik populací/jedinců *P. alpina* bylo (ne)živorodých.
 - kapitola 4.4: Chybí uvedení excitačního zdroje u přístroje Partec Cy Flow ML. Z textu jasně nevyplývá, s jakou 2C hodnotou žita bylo počítáno. V textu mělo být vysvětleno hodnocení dat (tzv. P_{ind} values) u FCSS analýz. Chybí i ve výsledcích. Neznalý čtenář se v této problematice může ztrácet.
 - kapitola 4.5: Absence informace o pořizování fotografické dokumentace.
 - obr.č.9: Chybí popis vzorků/jamek gelu.

- Tabulka č.2: Chybí specifikace pufru a Taq polymerázy u složení PCR mixu.
- Tabulka č.3: Nepřesný popis. Správně Podmínky PCR reakce. Pozor, 36 cyklů se týká pouze kroků denaturace, nasedání primerů (annealing) a syntetické fáze DNA (elongace), nikoliv všech fází PCR reakce.
- Není uvedeno, jak byly vzorky přečištěny a jak byly sekvenovány (s forward i reverse primery?).
- kapitola 4.8: Extrahovaná data z Genbanku mohla být součástí přílohy (ID, jméno taxonu, alignment).
- Výsledky:
 - Tabulka č.4: Hodnoty některých znaků (tj. počty kolének, větví v nodu a květů v klásku) lépe zaokrouhlovat na celá čísla.
 - obr. č.10 a 11: Barvy box-plotů mohly korespondovat s barvami v mapě, jako u PCoA diagramů.
 - obr. č.13: Prohodit PCoA diagramy mezi sebou.
 - Tabulka č.6 a 7: Všechny hodnoty uvádět na dvěma desetinná místa.
 - Tabulka č.7: Nepřesný popis. AGS pouze u cytotypů A-E, H.
 - obr.č.18: Není uvedeno měřítko, případně zvětšení.
 - Výsledný alignment měl být zahrnut do výsledků nebo alespoň do přílohy. Nejsou uvedeny pozice detekovaných SNP, inzercí/deleci.
- Diskuze:
 - Měřené morfologické znaky, nikoliv morfometrické znaky.
 - „Z žádného preparátu kořenových špiček *P. alpina* a *P. pumila* se počet chromozomů bohužel zjistit nepodařilo.“ Tato informace měla být součástí výsledků.
 - Správně: cra průměr 2C = 4,58 pg; pum průměr 2C = 4,33 pg
- Přílohy:
 - Součástí přílohy měla být tabulka RGS/AGS hodnot ke každé studované populaci, aby byla jasná příslušnost populace k cytotypu A-J.
 - Příloha č.2: chybí uvedení počtu jedinců na populaci, datum sběru.
 - Příloha č.2: AGS namísto GS (absolutní velikost genomu).

Na autorku mám několik doplňujících dotazů do diskuze:

1. Cíle práce slibují hledání vhodných variabilních jaderných a chloroplastových markerů, a následně rekonstrukci fylogenetických vztahů. V textu se však objevuje pouze jediný chloroplastový lokus (trnL-trnF, místy chybně uváděno trnT-trnL-trnF (TLF)). Proč nebylo

testováno více plastidových, ale i jaderných úseků? Např. fylogenetické studie citované v textu často pracují s jaderným úsekem ITS. Prosim o vysvětlení.

Proč je výsledný strom součástí přílohy, nikoliv uveden ve výsledcích v textu?

S ohledem na získaná data (tj. nevhodnost studovaného lokusu), jaký byste navrhla další postup při rekonstrukci příbuzenských vztahů v rámci *Poa* sect. *Bolbophorum* a objasnění původu jednotlivých taxonů? Jakým způsobem byste ve studiu dále pokračovala? Dokázala byste odhadnout původ (stáří) některého z taxonů (např. *P. crassipes*)?

2. Jako jeden z kvalitativních znaků uvádíte znak plevy stejné/nestejné. Bylo myšleno zbarvení? Není jasné, čeho se tento znak týká.
3. Patrně nejvíce morfologicky variabilním taxonem byla *P. alpina*. Jak moc se od sebe liší v kvantitativních znacích živorodé a neživorodé rostliny? Byly vždy celé populace (ne)živorodé? Je zde nějaký pattern ve vztahu k detekovaným cytotypům/skupinám?

Jedinci *P. pumila* se dle PCoA analýz shlukují s *P. alpina*. Zbylé taxony tvoří víceméně samostatné shluky. U *P. pumila* byl navíc detekován patrně triploidní cytotyp B, jako u některých populací *P. alpina* (kterých bohužel nevíme), ačkoliv by *P. pumila* měla být diploidní. Máte pro to nějaké vysvětlení (např. možnost záměny)?

4. Zaujala mě pozoruhodná variabilita v obsahu DNA, zvláště v rámci *P. alpina*, kde bylo rozlišeno celkem devět skupin/cytotypů (dle RGS). Jedná se o arктоalpínský druh s obrovským areálem. Lze mezi těmito skupinami sledovat nějaký geografický pattern? Byly některé populace cytotypově smíšené?

Proč nebyla měřena absolutní velikost genomu od každého z cytotypů A-J (chybí pro cytotypy F, G, I, J)? Zcela chybí AGS pro *P. ursina*, dle RGS druhý nejvíce variabilní taxon této skupiny. Proč? Mohlo být nápomocné při interpretaci dat.

Proč jste do práce nezahrnula všechny populace *P. alpina* analyzované v předchozí bakalářské práci? Např. absence Šumavy nebo populace (patrně SK, Oravice, Juráňova dolina?) s $2C = \text{ca. } 3.5 \text{ pg}$, tzn. velikost genomu, která se v této práci neobjevuje.

Dokázala byste vysvětlit původ této variability? Nastínit případný evoluční scénář? V diskuzi zmíněno velmi okrajově.

Závěr: I přes výše uvedené připomínky obsahuje práce všechny náležitosti a splňuje požadavky kladené na diplomové práce v odborném studiu, a proto ji **doporučuji** k obhajobě.

V Olomouci 28. 5. 2024


Mgr. Lucie Koblrová, Ph.D.
Katedra botaniky PŘF UP, Olomouc