

**Oponentský posudek magisterské diplomové práce „Kubešová M.: Fenotypová plasticita a cytotypy *Agrostis stolonifera* v České republice“. – Ms., 46 pp.+přil., BF JU, 2007.**

Předkládaná práce si klade za cíl zhodnocení morfologické variability vybraných znaků tří známých cytotypů druhu *Agrostis stolonifera* a jejich fenotypické plasticity v závislosti na podmínkách prostředí v kultivačních experimentech, rozšíření cytotypů na území ČR, zjištění velikosti genomu většiny našich druhů rodu a dále pokus o prokázání hybridogenního původu pentaploidních jedinců *A. stolonifera* pomocí analýzy isoenzymů. Jde tedy o mnohorozměrnou biosystematickou studii, kombinující řadu metodických postupů pro zodpovězení položených otázek, která navazuje na výsledky předchozí bakalářské práce i některé publikované zahraniční studie.

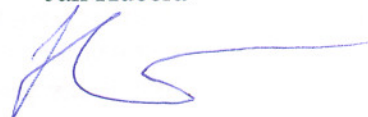
Práce je klasicky členěna a prezentována formou česky psaného rukopisu o rozsahu 46 stran a 4 nečíslovaných příloh. Formální úprava rukopisu i obrazová dokumentace jsou na velmi dobré úrovni, chyb a překlepů je nízký počet, namátkovou kontrolou jsem nezjistil chybějící ani nadbytečné lit. odkazy, nesjednoceno zůstalo pouze v některých případech uvádění čísla periodik (obvykle bývá vypouštěno). Výběr, popis a provedení použitých metod, diskuse výsledků s literaturou jsou obecně dobře provedeny, výsledky jsou stručně, ale výstižně shrnuté. Za nejzdařilejší považuji část věnovanou kultivačním experimentům a vyhodnocení velikosti průduchů v závislosti na cytotypu, velmi předběžné výsledky jsou naopak zatím z isoenzymových analýz; počet analyzovaných vzorků na analýzu regionálního či stanovištního zastoupení cytotypů *A. stolonifera* u nás by bylo zřejmě třeba ještě rozšířit. Mám tedy pouze několik připomínek a drobných dotazů:

- kapitola Úvod je podle mého názoru nepříliš nepromyšlená – autorka začíná odstavcem o významu polyploidizace v evoluci rostlin, ačkoliv to je jen dílčím tématem práce, v závěru kapitoly rozebírá cíle práce, postulované v následující kapitole
- k cílům práce jako takovým: vzhledem k celkovému zaměření práce (≈cytotypy, fenotyp druhu *A. stolonifera*) se mi zdá být snaha o důkladné zdokumentování velikosti genomu prakticky všech u nás rostoucích druhů *Agrostis* poněkud naddimenzovaná, její přínos k hlavnímu tématu práce podle mého názoru neodpovídá realizované finanční a časové investici – naopak větší investice do vlastní distribuce cytotypů *A. stolonifera* a isoenzymových analýz mohla možná přinést zajímavější a lépe interpretovatelné výsledky. Autorka sama v úvodu těmito myšlenkám nahrává, když píše o „oblíbenosti stanovování abs. velikosti genomu“. Po přečtení zmínky o variabilitě 5x jedinců, naznačující hybridogenní původ (předpokládám, že byla míněna „okometricky“ větší variabilita než u 4x a 6x typů) mě napadlo, proč se autorka nepokusila tuto hypotézu ověřit?
- literární přehled se velmi důkladně věnuje zejména průtokové cytometrii a jejímu využití v rostlinné biosystematice, jakož i fenotypovými projevy polyploidie a využití analýzy isoenzymů, ovšem pod zavádějícím názvem kapitoly „Běžné druhy rodu *Agrostis* v ČR“ by asi čtenář očekával více než zmínku o zjištěných cytotypech (na území zpravidla mimo ČR)
- k patternu rozšíření cytotypů v ČR: autorka tvrdí, že neexistují žádné vazby a zastoupení je poměrně homogenní – z prezentované mapky to ale přeci jen tak nevypadá – v jižních Čechách a na Čm. vrchovině je nápadné vysoké zastoupení pentaploidů, které jsou jinde velmi řídké roztroušené, v záp. Čechách zatím nebyly prokázány 6x rostliny, které zase převažují v Polabí...? Uznávám samozřejmě, že příliš smělé hypotézy o vazbě cytotypů na stanoviště či regiony při uskutečněném počtu analýz není možné vznášet, ale možná by pokus o ně mohl jasněji naznačit příští doporučené směry výzkumu.

Celkově autorka odvedla velký kus práce, sebraná data v rámci možností správně vyhodnotila a vyvodila logické závěry; výsledky jsou po rozdělení na logické části a dopravení do obvyklého formátu publikovatelné v recenzovaném časopise. V případě úspěšné obhajoby navrhuji hodnotit práci stupněm **výborně**.

V Českých Budějovicích, 22.5.2007

Jan Kučera





**Oponentský posudek magisterské diplomové práce Magdaleny Kubešové.  
Fenotypová plasticita a cytotypy *Agrostis stolonifera* v České republice**

Autorka si v předkládané práci vytkla za cíl zhodnotit fenotypovou plasticitu a zastoupení ploidních úrovní u druhu *Agrostis stolonifera*. Jistým nádavkem je pak zhodnocení diferencí v obsahu jaderné DNA u „běžných“ druhů rodu *Agrostis* v ČR a pokus o objasnění původu pentaploidních rostlin *A. stolonifera* pomocí izozymových analýz.

Práce je klasicky strukturována, psána čtivou a věcnou formou bez zbytečných gramatických chyb či překlepů. Použité grafy, tabulky a obrázky (včetně barevných) vhodně doplňují text a umožňují tak rychlou orientaci v dosažených výstupech. Co považuji za poněkud nešťastné je časté odkazování na výsledky publikované v bakalářské práci. Začínat kapitolu Závěr větou: „Podařilo se rozšířit materiál o dalších zhruba 150 vzorků *Agrostis stolonifera* a upřesnit znalosti o rozšíření cytotypů druhu.“ je sice pěkné, ale pokud čtenář před sebou nemá autorčinu bakalářskou práci, na kterou jak předpokládám tato věta odkazuje, pak mu smysl tohoto tvrzení poněkud uniká.

Nyní podrobněji k jednotlivým kapitolám:

Literární přehled

Nemám velkých námitek proti opětovnému popisování všeobecně známých metodických přístupů (počítání chromozómů, průtoková cytometrie, apod.) ve všech diplomkách, nicméně když už se tak autorka rozhodla učinit, pak by bylo dobré se v těchto pasážích vyvarovat chyb, neboť je odhalí téměř každý. Např. na str. 6 v pasáži o průtokové cytometrii autorka píše, že se v této metodice užívají 3 typy barviv – interkalační, A-T a G-C specifická. Což je samozřejmě pravdou, ale pouze ve velmi malém procentu aplikací průtokové cytometrie zaměřených na obsah DNA. Celá pasáž o průtokové cytometrii je očividně psána s přílišným ovlivněním „rostlinnými“ aplikacemi, které ale tvoří jen nepatrnou část využitelnosti metodiky. Tato „orientace“ by nebyla na závadu pokud by ji takto autorka prezentovala a vyhnula se zkrslujícím zevšeobecněním.

Metodika

Ačkoliv si je autorka dobře vědoma nomenklatorických pravidel při určování ploidie pomocí průtokové cytometrie (viz str. 8), ve vlastním textu libovolně kombinuje pojmy „ploidie“ a „DNA-ploidie“.

Velmi chvályhodné je naopak precizní naplánování a provedení kultivačních experimentů, které proto považuji za stěžejní část práce a jejich výsledky jsou neoddiskutovatelným přínosem.

Výsledky

A) Počítání chromozómů: nikde v textu není uvedeno kolik rostlin od každé ploidie resp. druhu bylo počítáno, v kolika preparátech a mitotických figurách. Když už se autorka odhodlala zveřejnit obrázek mitotické figury, pak by bylo vhodné vybrat takový, na kterém je možné alespoň přibližně počet chromozómů spočítat (zvláště má-li jich vybraný taxon pouze 14!)

B) Stanovení ploidie: vzhledem k možnostem průtokové cytometrie se počet analyzovaných rostlin (155) jeví jako velmi nízký a pro seriózní studii o rozšíření cytotypů v rámci ČR a odhalení proporce smíšených populací by bylo třeba počet rostlin minimálně zdesateronásobit. Navíc prezentovaná mapa rozšíření cytotypů vykazuje poměrně rozsáhlé oblasti našeho území, které nejsou reprezentovány ani jedním sběrem (např. téměř celá S Morava). Z výsledků a prezentované tabulky sběrů (Příloha 1) mimo jiné není vůbec patrné kolik populací bylo prosbíráno a s jakou intenzitou. Z různých indicií v textu a v této tabulce usuzuji, že každá sebraná rostlina měla vlastní číslo, které bylo ale prezentováno jako číslo lokality (viz Příloha 1), což je zcela mimo mé možnosti chápání a určitě to nešlo udělat komplikovaněji!

C) Kultivační experimenty: k výsledkům velmi dobře promyšlených a zrealizovaných pokusů nemám nejmenších výhrad.

D) Analýza izozymů: nikterak nepřispěla k vyřešení otázky původu pentaploidních rostlin, což tedy při zahrnutí pouhých 29 rostlin snad nebylo ani myslitelné. Nehledě na to, že jakékoliv vyhodnocování vyšších ploidních stupňů (5x a 6x) je velmi komplikované, mnohdy až nemožné



a určitě bylo možné pro zamýšlenou studii zvolit vhodnější metodiku. Mnohem reálnější se mi tato metoda jeví např. při určování počtu klonů formujících populace či při stanovení růstových možností klonů v přirozených podmínkách.

E) Opylovací experiment: podobně jako analýza izozymů skončil víceméně fiaskem, což v tomto případě bylo zapříčiněno „vyšší mocí“, tedy počasím.

#### Diskuse

Každý typ metodického přístupu a relevantních výsledků je diskutován separátně, což při zvolené struktuře práce a nesourodosti jednotlivých témat není na škodu, přesto by jistá provázanost a hledání vzájemných souvislostí mezi získanými výsledky byla žádoucí. Např. v odstavci věnovanému počítání chromozómů autorka zmiňuje častou přítomnost B chromozómů, která mimo jiné může mít vliv na vnitrodruhovou variabilitu v obsahu DNA. Míru variability v obsahu DNA (např. vnitrocytotypové) autorka nestanovovala, ačkoliv její cytometrická měření (155 analýz různých ploidií) k tomu přímo vybízejí, neboť byla vždy prováděna s interní standardizací. Je totiž zcela jedno jsou-li pro účely odhalení např. vnitrocytotypové variability použita data z absolutního nebo relativního měření obsahu DNA (vzájemně jsou oba typy dat sice nesouměřitelné, ale v rámci každého datového souboru je analýza variability možná).

Do souvislosti by bylo možné dát i neexistenci prostorové uspořádanosti v rozšíření cytotypů *A. stolonifera* v rámci ČR a neprokázané diferenciaci v růstových charakteristikách při pěstování v různých podmínkách či při různém typu disturbance. Jinými slovy, pokud neexistuje nějaký faktor například fytogeografický, pak není důvod se domnívat, že by cytotypy nemohly růst pospolu.

Povedenou částí diskuse je stať věnovaná oběma kultivačním experimentům, neboť získaná data bylo možno dobře zpracovat a následně zhodnotit a celkově tu část diplomové práce věnované této problematice považuji za nejzdařilejší a nejlépe „prodanou“.

Závěrem lze říci, že předkládaná práce splňuje kritéria diplomové práce a doporučuji ji k obhajobě.

Návrh hodnocení: velmi dobře

#### Otázky:

- 1) Pokud má autorka k dispozici potřebná data (resp. měla by je mít), pak by mne zajímala míra vnitrocytotypové variability v obsahu DNA u *A. stolonifera* na souboru všech 155 měření.
- 2) V diskusi je dokázáno neopodstatněné vnitrodruhové členění *A. stolonifera* v Dostálově pojetí. Co si autorka myslí ve světle svých závěrů o jeho pojetí vnitrodruhového členění u *A. capillaris*?
- 3) V kultivačním experimentu se ukázal jako průkazný znak odlišující jednotlivé ploidie počet výběžků, s tím, že nejvíc jich tvoří pentaploidi. Odpovídá si tento výsledek s autorčinou terénní zkušeností?

Pavel Trávníček

