

Filip Kolář: Serpentine differentiation and polyploid evolution in *Knautia arvensis* agg. (Dipsacaceae)

Magisterská diplomová práce F. Koláře je podána formou dvou rukopisů článků (jednoho již uveřejněného v prestižním mezinárodním časopisu *Annals of Botany*, druhého zatím nepodařeného), spojených krátkým úvodním slovem a shrnutím. Oba rukopisy i shrnutí jsou psány v angličtině a poskytují různé úhly pohledu na mikrospeciační problematiku hadcových a nehadcových populací příbuzenského okruhu *Knautia arvensis*.

Hned na začátku je potřeba zdůraznit, že magisterská práce podaná formou jednoho již zveřejněného rukopisu v respektovaném časopise a dalšího k podání prakticky připraveného (o úspěšnosti jeho přijetí po menších úpravách nepochybuji) je dosud velmi nadstandardní a veškeré následující připomínky je třeba posuzovat touto optikou. Téma druhého rukopisu velmi vhodně a podstatným způsobem doplňuje skutečnosti zjištěné cytometrickým screenin- gem, a bezpochyby potěšující pro autora je skutečnost, že jeho dříve postulované hypotézy z velké části potvrzuje. Nicméně zpět k roli neúprosného oponenta v pořadí poznámek dle stránek (první z rukopisů již prošel řádným recenzním řízením a nemám k němu žádné připomínky):

1. Filipova samostatnost ve vědecké práci je všeobecně známa, nicméně sluší se (a snad je to i předepsáno) na titulní stranu uvést školitele; jeho jméno se dozvíme naštěstí alespoň z poděkování.
2. Úvodní tři stránky shrnující oba rukopisy jsou téměř zcela nadbytečným textem, který na první pohled působí textem šitým trochu horkou jehlou, po přečtení obou následujících rukopisů však odhalíme podstatu tvorby převážně za pomoci horkých tlačítek *Ctrl+C* – *Ctrl+V*, s bloky textu amplifikovanými zejména z templátu úvodní kapitoly druhého z rukopisů. Je rovněž zjevné, že tato část (stejně jako druhý rukopis) neprošel dosud jazykovou korekturou, protože množství gramatických a syntaktických chyb v angličtině působí místy až rušivě.
3. Druhý z rukopisů je sice prezentován jako manuskript článku, avšak u takového mi chybí velmi podstatně uvedení autorství (předpokládám, že jediným autorem není Filip) a poděkování. Rovněž chybějící abstrakt považuji za velmi důležitou a nedílnou součást jakéhokoli rukopisu.
4. Rukopis samotný je na můj vkus celkově dost rozvláčný a předpokládám, že požadavek na zkrácení některých částí (úvod, části diskuse) bude jedním z prvních recenzních požadavků.
5. V Metodice by bylo vhodné sjednotit molekulární protokoly do jedné kapitoly a používat jednotné zkratky pro jednotky objemu. V tabulce detailů k lokalitám se vyskytuje tradiční nešvar falešné přesnosti uváděných souřadnic na setiny vteřin, tj. v naší oblasti řádově 20-30 cm, a to zároveň při neuvedení souřadného systému (používané systémy u nás mají projekci identické souřadnice na zemský povrch v rozptylu řádově 150 m).
6. Formální drobnosti: v citacích literatury se oproti textu vyskytují občas rozdíly v datech publikací (Swofford 2002 × 2003, Slovák et al. 2008 × 2009, Soltis et al. 2004 × 2003) a způsobu psaní (Breton Sintés × Breton-Sintés), několik citací není správně abecedně zařazeno, jméno hybridu *Knautia ×posoniensis* je nesprávně uváděno s mezerou za značkou × (prošlo i do prvního publikovaného rukopisu).

K diskusi:

- Autor(-ři?) navrhuji na základě svých výsledků validaci ineditního Smejkalova taxonu *K. a.* subsp. *serpentinicola*: proč není tato formálně dotažena?
- Přes řadu úvah o speciačních mechanismech reliktních populací mi chybí jasnější názor na výrazně odlišnou úroveň genetické (a morfologické?) diferencovanosti západoevropských/franckých populací od okolních ve srovnání s případy středoče-

kých/krkonošských/středo-východoslovenských populací. Předpokládá autor jiný časový horizont těchto událostí nebo ještě další mechanismy?

Celkově samozřejmě nepovažuji výše uvedené připomínky za jakkoliv bránící výslednému hodnocení z mé strany, které je: **výborně**.

V Č. Budějovicích, 25.5.2009

Jan Kučera



Oponentský posudek na magisterskou práci Filipa Koláře na téma „Serpentine differentiation and polyploid evolution in *Knautia arvensis* agg. (Dipsacaceae)“

Předložená magisterská práce prohlubuje naše znalosti o diverzitě a evoluci v rámci skupiny *Knautia arvensis* ve střední Evropě. Autor studoval rostlinný materiál zvláště z území ČR, Slovenska a Rakouska, zastoupeny byly i nepočtené sběry z Maďarska, Polska, Ukrajiny a Německa. Široké spektrum použitých metod zahrnuje terénní studium, stanovení počtu chromozómů, průtokovou cytometrii a molekulární analýzy.

Autor navazuje na dřívější studie zabývající se projevy a důsledky spletité evoluční historie skupiny ve střední Evropě, ve které hrálo roli množství evolučních a evolučně významných procesů, včetně fragmentace původního areálu široce rozšířeného diploidního taxonu, vznik refugií a místních reliktních populací, morfologická a genetická diferenciacie v závislosti na podmínkách prostředí, opakovaná polyploidizace, alopatrická speciace, vznik reprodukčních bariér, následná rekolonizace území po antropogenním odlesnění krajiny a hybridizace. Autor doplňuje předchozí poznatky o nová zjištění, která umožnil rozvoj technik donedávna nedostupných, zejména masivní zjišťování ploidní úrovně průtokovou cytometrií a porovnávání genotypů pomocí analýz DNA.

Posuzovaný materiál je soubor dvou prací opatřený úvodní částí. Jeden článek byl již publikován v respektovaném mezinárodním časopisu, druhý rukopis představuje materiál, který patrně bude po dopracování submitován.

První studie týmu 8 autorů je založena na zpracování vzorků metodou průtokové cytometrie. V porovnání s předchozími studii založenými na počítání chromozómů umožňuje technika FCM zpracování mnohem většího množství vzorků a následné podrobnější vymapování rozšíření a frekvence jednotlivých cytotypů. Práce tak přináší výsledky analýzy bezmála 6000 rostlin nebo diaspor z 292 populací. Charakter rozšíření cytotypů byl studován na třech úrovních měřítka.

Za nejvýznamnější zjištění považují odhalení signifikantního rozdílu ve velikosti genomu mezi hadcovými a nehadcovými („panonskými“) diploidními populacemi, což podporuje dřívější úvahy o odlišné evoluční historii těchto dvou skupin diploidů. Dále byla detekována přítomnost reliktních diploidů v komplexu Mnichovských hadců, odkud byly dosud známy pouze tetraploidní rostliny, což mohlo vyvolávat otázky o jejich skutečném původu. Nález diploidů v tomto území podporuje oprávněnost řazení tamějších populací k reliktním liniím. Za zmínku stojí i první zjištění (vzácné) existence triploidů v rámci druhu *K. arvensis*.

Ve druhé studii autor (nebo autoři? – neupřesněno) studoval genetickou strukturu a diferenciaci pomocí metody AFLP a sekvenování chloroplastové DNA. Bylo zjištěno, že hadcoví diploidi a hadcoví tetraploidi jsou si geneticky bližší než obě skupiny diploidů (hadcoví vs. nehadcoví) navzájem, což je v souladu s dřívějšími závěry morfometrické analýzy, která odhalila jistou míru morfologické diferenciacie mezi hadcovými a nehadcovými populacemi na obou ploidních úrovních. Genetická podobnost hadcových diploidů a tetraploidů je v souladu s dřívější hypotézou o tom, že hadcoví tetraploidi jsou místní autopolyploidi vzniklí z reliktních diploidů, ačkoliv nelze vyloučit, že v komplexu Mnichovských hadců probíhá i proces lokální adaptace široce rozšířených tetraploidů k hadcovým podmínkám. Genotypy specifické pro hadcové reliktní rostliny byly nalezeny i

mimo hadcové území, což naznačuje, že tyto reliktní rostliny se mohou i lokálně šířit a patrně i hybridizovat s nehadcovými tetraploidy. To poukazuje na zajímavou skutečnost, že hadcová území mohou sloužit nejen jako refugia genetické a taxonomické diversity, ale i jako zdroj pro další mikroevoluční a speciální procesy v krajině.

K magisterské práci nemám žádné zásadní připomínky. V předložené práci se v přetištěném reprintu několikrát odkazuje na online Supplementary Data. Považoval bych za vhodné, aby tato data byla součástí předložené magisterské práce. Drobné překlepy a nevýznamné chyby ponechávám stranou.

Při čtení materiálu jsem zaznamenal jeden poněkud nejasný moment. V publikovaném článku je triploid zjištěný na Planém vrchu interpretován jako hybrid mezi diploidem a tetraploidem a explicitně je zpochybněna reprodukční bariéra mezi ploidními úrovněmi. Jak byla vyloučena možnost, že se jedná o autotriploida vzniklého křížením redukované a neredukované gamety v rámci diploidní populace?

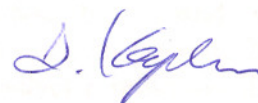
Nastíněný scénář komplikované evoluce nabízí možnost popustit uzdu fantazii. Je téměř jisté, že situace byla v průběhu holocénu ještě složitější, že existovalo více imigračních vln, a také více reliktních populací (např. na skalách v říčních údolích), které se ale již téměř zcela rozpustily v pozdějších hybridizačních rojích po vzniku otevřené antropogenní krajiny. Některé lokální projevy variability by tak mohly představovat poslední stopy po těchto procesech. Zjistil autor (např. při hodnocení molekulárních dat) nějaké nápadné ostrůvky neobvyklé variability, nějaké opakující se unikátní (regionálně specifické) znaky?

Závěr:

Autor prokázal, že se velmi dobře orientuje v příslušné literatuře a v moderní taxonomii rostlin. Výsledky uvedené v diplomové práci jsou založené na širokém spektru přístupů a adekvátním množství dat. Zadané téma je kvalitně zpracované a výsledky studia hodnotím jako významný příspěvek k prohloubení znalostí taxonomie skupiny *Knautia arvensis* ve střední Evropě.

Magisterskou práci navrhuji hodnotit klasifikačním stupněm: výborně.

V Průhonicích dne 22. května 2009



Mgr. Zdeněk Kaplan, Ph.D.
Botanický ústav AV ČR, v. v. i.
Zámek 1

252 43 Průhonice