

Oponentský posudek na bakalářskou práci Viktorie Brožové: „Altitudinal distribution of apomixis in the high-alpine flora of the Ladakh, NW Himalaya“

Cílem oponované bakalářské práce bylo za pomoci průtokové cytometrie semen zjistit reprodukční systém 232 druhů z Ladáku. U 172 druhů byla zjištěna sexuální produkce semen, pouze u 9 apomixe. V dalších případech nešlo reprodukční systém určit. Práce na 31 stranách textu (bez literatury) přináší cenná data, která si jistě zaslouží brzkou publikaci. Velmi oceňuji, že autorka prezentuje v textu, ale především na více než 20 stranách příloh všechna zjištěná data, a to včetně negativních a nejasných výsledků, což není obvyklým standardem a jistě to bude neocenitelnou pomocí pro všechny následovníky. Objem dat (téměř 1000 cytometrických analýz) je na bakalářskou práci úctyhodný, jejich analýza je kvalitní, interpretace strážlivé, množství prostudované a citované literatury velké a dostatečné (snad by se mohla hodit ještě práce *Spielman, M., Vinkenoog, R., Scott, R.J., 2003. Genetic mechanisms of apomixis. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 358, 1095–1103. doi:10.1098/rstb.2003.1298*). V tomto ohledu je třeba autorku velmi pochválit. Úkolem oponenta je však hledat chyby a nejasnosti, a tak se zaměřím na stránky práce, které zklamaly mé očekávání nebo věci, které mi při čtení nebyly příliš jasné.

Práce je podle moderního trendu psána anglicky. Bohužel musím konstatovat, že jí to na kvalitě nepřidalo. Angličtina je těžkopádná, používá příliš opisné formulace (např. „agamospermy is **a sort of asexual reproduction by seeds**“ namísto jednoduchého „**asexual seed formation**“ a ve srovnání s recentními publikacemi na dané téma se čte podstatně hůře. Některé části (zvláště v úvodu) jsou až nesrozumitelné a není úplně jasné, zda je to způsobeno neporozuměním originálním zdrojům nebo vyjadřovací neobratností autorky. V některých částech text ne zcela logicky navazuje (např. mezi některými odstavci, které zřejmě nebyly psány po sobě a již nezbyl čas na logické propojení), rozbíhá se do dalších úvah, aby se k některým myšlenkám zase vrátil na neočekávaných místech.

Úvod

Úvod se snaží popsat všechny důležité stránky problematiky. Osobně bych však změnil důraz kladený na jednotlivá dílčí témata. Klidně bych zcela pominul zajímavost unikátní paternální apomixe u hybridů rodu *Cupressus* (i když byla publikována v časopise *Nature*) a větší prostor věnoval rozboru problematiky zjišťování reprodukčního systému pomocí průtokové cytometrie, který je v úvodu nedostatečný. Poněkud je to napraveno v diskusi, ale podle mého názoru obecný rozbor problému a upozornění na úskalí zvolené metodiky patří do úvodu. Jistě by si také zasloužila zmínka problematika endopolyploidizace endospermu, která je zmíněna jen v metodické části.

Také bych ocenil krátké zasazení problematiky do kontextu celého výzkumu, který v Ladáku probíhá. Kdybych nebyl do situace zasvěcen, naprosto bych netušil, proč podobný výzkum dělá česká studentka zrovna v Ladáku, jaká data jsou ještě k dispozici, co se s nimi případně zamýšlí apod. Není ani zjevné, zda všechny vzorky sbírala sama autorka nebo se jednalo o kolektivní práci.

Metodika

V této části mi schází informace o lokalitách. I když jsou v tabulce 2 uvedeny i s nadmořskou výškou a souřadnicemi, mnohem lepší by bylo uvést je v samostatné tabulce přehledně,

s příslušným biotopem, aby si čtenář mohl udělat rychle přehled, například o pokrytém výškovém gradientu.

V části cytometrické je uvedeno, že protokol použitý pro analýzu listů *Biebersteinia odora* byl stejný jako u semen. U nich byly ale použity dva protokoly. Který z nich byl použit pro listy, musí být tedy napsáno jasně. V části analýza dat je uveden postup, jakým byly odlišeny hodnotitelné „peaky“ od šumu. Chci se zeptat, zda byl tento postup aplikován i pro apomiktické případy a jak? Do které části histogramu byl pak umístěn „referenční gate“?

Výsledky a diskuse

Jak již bylo zmíněno, tyto části jsou poměrně důkladně zpracovány a doplněny množstvím originálních dat v přílohách. V diskusní části autorka skutečně pěkně probírá různá vysvětlení zjištěných výsledků a dává je do kontextu s údaji z literatury. Mám zde však několik dotazů.

Variabilita v reprodukčním systému *Biebersteinia odora* je pozoruhodná a zasloužila by si rozsáhlou studii, včetně analýzy cytotypů v přírodních populacích. Prezentované výsledky mi však nejsou zcela jasné. Z tabulky 3 v přílohách je zjevné, že autorka předpokládá opakovanou účast triploidních rostlin při tvorbě endospermu, a to dokonce v jednom případě dvou spermatid. V části výsledků je však tato skutečnost shrnuta do kategorie nejasných poměrů. Nepochopil nebo nenašel jsem kategorii „pseudogamy, 2x unreduced sperm cells“ z obrázku 9. Prosím o vysvětlení. Máte nějaké vysvětlení proto, že v případě potenciálního oplodnění neredukovaného zárodečného vaku (obr. 8) je tak výrazná G2 fáze, zatímco u jiných analýz tohoto druhu se G2 fáze prakticky neobjevuje? Proč není prezentován histogram ze žádné analýzy s potenciální účastí triploidní rostliny. Byly tak špatné? Nemohlo by docházet u tohoto druhu k ještě nějakým jiným nepravostem (endopolyploidie, sporofytická agamospermie – do řádu *Sapindales* patří i citrusy). V diskusi se zmiňuje, že v populacích je pravděpodobný výskyt triploidních rostlin. A co tetraploidní? Tetraploidní embrya byla zjištěna také u dvou populací. Je tedy výskyt tetraploidních rostlin méně pravděpodobný než rostlin triploidních a proč?

V případě *Potentilla gelida* je na str. 22–23 připouštěna možnost, že menší poměr endosperm/embryo mohl vzniknout v důsledku oplodnění neredukovanou spermatidou s menším genomem. Víte tedy něco o variabilitě genomu u zkoumaných populací *Potentilla gelida*? Vyskytují se na dané lokalitě ještě jiné druhy, které by mohly být zdrojem pylu, jak se může stát v případě zmíněných jeřábů?

V části „Apomixis in high elevation“ vysloveně schází zmínka o práci Hörandl et al. 2011, i když chápu, že v tomto kontextu byla citována v úvodu. Je také zmíněno, že bohužel nejsou dostupná data o reprodukčním systému zkoumaných druhů v nižších polohách. Opravdu se autorka domnívá, že by se mohly druhy, u nichž zjistila apomixi, v nižších polohách rozmnožovat sexuálně?

Závěr

Osobně bych do závěru nepsal nejasné výsledky (*Carex*). Naopak mi zde schází nějaké konkrétnější shrnutí výsledků obsahu endospermu v semenech. Něco jako doporučení, že průtoková cytometrie není moc vhodná pro analýzu semen např. v čeledi *Chenopodiaceae*, zatímco s čeledí např. *Ranunculaceae* se pracuje dobře (pokud to tak je).

Formální poznámky:

Změnil bych název práce. Předpokládám, že uvedený název pochází ze zadávacího protokolu. Vzhledem ke zjištěným výsledkům by se nabízelo něco ve smyslu „Breeding systems in the high-alpine flora of the Ladakh“. Rozhodně to více odpovídá výsledkům a ušetří to zklamání zvědavému čtenáři, který na základě názvu očekává hezká data ukazující vztah apomixe a nadmořské výšky.

✓ V textu bych místo spp. používal normálně slovo species.

Seznam literatury považuji za dost ostudný. Zajímalo by mne podle jakého zdroje byl sjednocen. Budí to dojem, že byl vygenerován z nějakého „reference manageru“ a už neupravován, což je trestuhodné. Roky na konci citace jsou velmi nepraktické. U některých publikací s mnoha autory je část autorského kolektivu shrnuta do et al., u jiných ne. Když mohou používat diakritiku některé světové časopisy, mohli bychom ji používat i v našich diplomových pracích. U některých citací Noglera 1984 v textu není rozlišeno, zda jde o 1984a nebo b. Práce Williams 1975 není citována v textu. Naopak v seznamu literatury scházejí práce Herr 1971, 1992, Maynard Smith 1978 (Smith je tam jen 1963), Münzing 1928, Asker 1970b, 1985, Rutishauser 1943.

Doporučoval bych zamyslet se nad tím, co je opravdu nutné uvádět do tabulek ve výsledcích a přílohách. Jistě by se daly ušetřit sloupce a tabulky by tak získaly na přehlednosti. Není také od věci zopakovat hlavičky sloupců alespoň zkráceně na každé straně, aby byl čtenář ušetřen listování.

- V hlavní tabulce výsledků (Supplements, Table 1) bych čeledě zcela vypustil, stejně jako poslední 3 sloupce, které se jich týkají. Data k čeledím jsou uvedena v jiné tabulce a tady jen zabírají místo. Druhy bych pak seřadil abecedně, aby se v nich dalo hledat.
- Abecední pořadí druhů bych zvolil i v tabulce 2, kde bych čeledi nechal až v druhém sloupci. Uspořádání podle čeledí je zde nepraktické pro hledání, zvláště když čtenář neví do jaké čeledi druh patří. Navíc není uvedeno, zda a podle čeho byly čeledi sjednoceny. Rozhodně je nesmyslné přiřazovat rod *Salsola* do čeledi *Amaranthaceae* a rody *Atriplex*, *Corispermum* atd. do čeledi *Chenopodiaceae*, která je navíc zařazena podle české abecedy. Za mrhání místem považuji v této tabulce uvádění zeměpisných souřadnic lokalit.
- Zbytečné je rovněž uvádění jména druhu, lokality a roku v samostatných sloupcích tabulky 3 ve výsledcích. Pokud je všechno stejné, patří to do hlavičky tabulky a nikoliv do jejích sloupců.

Závěrem konstatuji, že oponovaná bakalářská práce splňuje všechny požadavky kladené na tento typ práce. Vzhledem k výše uvedeným výtkám ji navrhuji hodnotit výborně nebo velmi dobře podle průběhu obhajoby.


Milan Štech

Křenovice, 21.5.2015