

Posudek habilitační práce Libora Ekrtů „ Stories of two life stages: reproduction modes, genome size, diversity and interactions among gametophytes and among sporophytes in ferns.

Libor Ekrt předložil v habilitační práci kvalitní soubor publikací, které jsou dobře provázány a tvoří velmi kvalitní celek. Mohl ze svých publikací vybrat ještě nejméně jeden kvalitní soubor, ale předložený soubor je na vysoké úrovni a vnitřně provázaný. Uchazeč se nezaměřil jedním úzkým směrem, ale jeho práce ukazuje širokou škálu přístupů od poznání mechanismů v pozadí pozorované variability až po kvalitní taxonomické zhodnocení. Neskřívám, že tímto přístupem je mi autor velmi sympatický. Řada z nových poznatků byla zjištěna či ověřena přímo v přírodě, někdy však bude velmi obtížné význam v přírodních podmínkách ověřit. Je to dáno objektem studia, velmi těžko si za současné metodiky umím představit studium kompetice na úrovni gametofytů přímo v přírodě. Přitom to může ovlivňovat velmi výrazně i přítomnost sporofytů buď přímo vylučováním inhibičních či stimulačních látek či nepřímo, vznikem látek se stejným účinkem při rozkladu sporofytů. Tyto skutečnosti ukazují výsledky článku 6.

Z práce je vidět, jak velkou pomůckou bylo zavedení a využití průtokové cytometrie při studiu rostlin. Umožnilo zpracovávat velké soubory dat, kde počítání chromozomů není kvůli vysokým počtům zcela jednoduché. V habilitační práci to je jasně ukázáno na řešení problematické skupiny *Dryopteris carthusiana*. Výzkum vedl k dobrému rozlišení jednotlivých druhů i jejich hybridů. Následující práce zabývající se frekvencí hybridů v přírodě ukázala, že pokud se naučíme dobře rozeznávat rodičovské druhy, tak jen jeden z možných tří hybridů je tak častý, že s ním musíme v přítomnosti rodičů téměř vždy počítat. Velmi přínosné pro naše botaniky je i to, že řadu svých výsledků publikovaných v cizině zpřístupnil širší komunitě články ve Zprávách ČBS a zpracováním v Klíči.

Za vynikající práce je nutno označit zejména zpracování komplexu *Cystopteris fragilis* na celosvětové úrovni. Zřejmě jde o první takovou studii u kapradin. Podobně pak v rámci evropského areálu je práce o *Pteridium aquilinum*. Ukazuje se stejně jako v jiných skupinách, že cytologická variabilita je mnohem častější i na menších prostorových úrovních, než se donedávna předpokládalo. Jsem zvědavý, zda podobná situace bude po zpracování druhu *Huperzia selago* (viz obhájené práce).

Velmi podnětné jsou práce zabývající se kříženci mezi sexuálními a apomiktickými druhy. I zde se ukazuje poměrně velká variabilita potomstva ve vztahu ke způsobům reprodukce. Ukázalo se, že nemusí jít alternativy, ale že některé zdánlivě apomiktické druhy mohou kombinovat oba způsoby reprodukce. Pak zbývá jen vyhodnotit, jaký význam mají tyto skutečnosti v přírodě.

Když jsem v roce 2012 na sjezdu České botanické společnosti hovořil o výzkumu apomiktů u nás, povzdechl jsem si, že apomiktické kapradiny zůstaly zatím mimo pozornost. To v současnosti už neplatí.

Zde si dovoluji ještě jedno povzdechnutí: Libor Ekrta ukázal, kolik nových poznatků se dá zjistit i na velmi omezeném spektru druhů, rostoucích v Evropě. Ale to hlavní druhové bohatství je zcela jinde a tam se dají očekávat ještě překvapivější poznatky.

Součástí práce uchazeče je i pedagogická činnost. Zde vedl řadu diplomových i doktorských prací. Je vynikající, že se výsledky objevily i mezi publikacemi, které jsou součástí habilitační práce.

Na habilitační práci si zvláště cením komplexního přístupu k problematice: od fyziologického přístupu ve studiu antheridiogenů, přes cytologický přístup ve studium apo-sexuálních hybridů, po karyogeografii a její reflexi v taxonomii a chorologii. Stejný široce koncipovaný přístup pak má uchazeč i ve své výuce, hlavně ve vedení diplomových a doktorských prací.

Habilitační práci Libora Ekrta jednoznačně doporučuji jako podklad k dalšímu řízení.

Průhonice 2.11. 2023



Prof. RNDr. František Krahulec, CSc.

Posudek oponenta habilitační práce

Uchazeč	RNDr. Libor Ekrt, Ph.D.
Habilitační práce	Stories of two life stages: reproduction modes, genome size, diversity and interactions among gametophytes and among sporophytes in ferns
Oponent	Doc. RNDr. Radim Jan Vašut, Ph.D.
Pracoviště oponenta, instituce	Katedra botaniky PŘF, Univerzita Palackého v Olomouci

Habilitační práce Libora Ekrtu představuje komentovaný soubor 13 publikací, které se věnují různým aspektům biosystematiky kapradin. V úvodu jsou aspekty jeho výzkumu jasně vysvětleny a publikace autora zařazené do habilitačního spisu jsou zasazeny do širšího kontextu současných znalostí v oboru, čtivě uvádí do zajímavého světa kapradin. Soubor 13 zařazených publikací představuje výběr z mnohem širšího publikačního portfolia autora a vybrané publikace jsou práce publikované (v našem oboru) velmi prestižních časopisech. Přestože publikování v dobrých časopisech neznamená vždy kvalitní výstup, práce Libora Ekrtu se vyznačuje promyšleností studií, pečlivostí a citem pro vystižení podstaty studovaného problému. Předložené publikace ukazují široký vědecký záběr autora a je úctyhodnou ukázkou moderního biosystematického výzkumu: propojení „klasické botaniky“ s moderními přístupy, tj. s využitím recentních metod vědeckého výzkumu pro pochopení evolučních a systematických vztahů zkoumaných skupin. Vysoce oceňuji využití širšího spektra laboratorních (experimentálních) metod, kultivační experimenty, ale také využití poznatků těchto studií v „nedoceňovaných“ typech publikací věnovaných chorologií s přesahem do praktických oborů, které jsou v habilitačním spisu zastoupeny 1 publikací, ale autor má řadu dalších prací podobného významu.

Předložená práce se sestává z vybraných publikací autora, které představují jeho nejzásadnější přínos k pochopení biologie kapradin, zejména v rodech *Dryopteris* a *Cystopteris*. Autor a jeho tým přispěli k pochopení důležitých biologických jevů spojených s apomixí, polyploidí, biotickými interakcemi a hybridizací. Vzhledem k mému vědeckému zaměření je pro mě nejvíce fascinující odhalení jevů spojených s apomixí a hybridizací mezi apomiktickými a alogamickými taxony v rodu *Dryopteris*, který dokázal vysvětlit pozorované patterny v přírodě, ale také odhalit fenomény nové (archegonia u apomikticky vzniklých gametofytů, rychlost vývoje, podíl gametofytů u kříženců). Zdůraznil bych obzvláště dalšího potvrzení variability reprodukčních mechanismů, tj. variability v tvorbě zároveň meioticky vzniklých haploidních výtrusů spolu s neredukovanými diplosporami, u pentaploidních kříženců (*Dryopteris xcritica*) vzniklých z křížení apomiktického a alogamního druhu. Banální nejsou ani další objevy, zejména cytotypová variabilita v rodu *Cystopteris* studovaná na globální úrovni, které zásadním způsobem přispívají k pochopení evoluční a taxonomických konsekvencí v tomto rodě. Autor významně přispěl ke kritické taxonomické revizi kapradin poskytující taxonomický koncept postavený na jednoznačných závěrech, s využitím nových metod, např. *Spore abortion index* (SAI) pro identifikaci reprodukčních způsobů, nebo vymezení taxonů s využitím průtokové cytometrie poskytující vzhled do morfologicky nepřehledné skupiny rostlin (jmenovitě zejména opět *Dryopteris* a *Cystopteris*).

Předložený habilitační spis představuje originální text autora, anti-plagiatorským systémem zjištěná shoda 3,1 % představuje nesprávně identifikované shody, ve všech 19 případech se jedná o citace publikací.

Závěrem bych chtěl habilitantovi pogratulovat k velmi dobré habilitační práci, kterou jsem si přečetl s velkým potěšením. Přeji mu další zajímavé objevy, které budou rozvíjet poznání nejen evoluce a systematiky kapradin, ale také fenoménů spojených s reprodukčními mechanismy rostlin.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

1)

Apomixie výtrusných rostlin je zajímavý fenomén a Liborův výzkum prokázal, že je to systém mnohem zajímavější ve své variabilitě a taxonomických konsekvencích. Z dřívějších prací, stejně jako ze studií autora plyne, že v rodě *Dryopteris* se vyskytuje tzv. Döpp-Mantonův typ sporogeneze/apomixie, který (na rozdíl od Diplosporie u krytosemenných rostlin) dokáže generovat v omezené míře genetickou variabilitu v potomstvu (segregace chromozómů a crossing-over během meiózy, která následuje po endomitóze při sporogenezi). Do jaké míry je známá genetická variabilita „apomiktického“ potomstva vzniklého tímto typem sporogeneze? Odráží se tato genetická variabilita v morfologické nestálosti apomiktických taxonů?

Apomixie u krytosemenných rostlin je vždy jednoho typu pro daný rod, s výjimkou některých zástupců čeledi Rosaceae, kde jsou v některých rodech uváděny dva typy apomixie. V současnosti je již známá genetická regulace některých typů apomixie, obecně se jedná o změny v metabolických drahách kontrolujících meiózu. Z (v této práci) prezentovaných studií i dřívějších prací je zřejmá variabilita meioticky vs. apomikticky vzniklých výtrusů, působí to tak dojmem, že rozdíl mezi meiózou a apomixií není tak striktní jako u kvetoucích rostlin. Zajímáme mne proto, zda u kapradin je taktéž silná vazba typu sporogeneze/apomixie na určité taxonomické skupiny, nebo existuje variabilita v tom, zda má rostlina Döpp-Mantonův typ sporogeneze nebo typ Braithwaiteovův (který vede, stejně jako krytosemenných, ke 100% geneticky homogennímu potomstvu). Jsou v případě 2. zmíněného typu apomiktické druhy stálejší?

2)

Fascinující se je objev značné variability ploidie v rodu *Cystopteris* a zároveň popsání charakteru rozšíření dominantních cytotypů v Evropě, prokázání polyfyletického původu polyploidů pomocí sekvenace cpDNA. Je tento fenomén u kapradin ojedinělý, nebo lze předpokládat (i s ohledem na variabilitu „modifikací meiózy“ u kapradin), že podobný pattern může představovat jeden z evolučních modelů kapradin?

Identifikace subgenomů u vyšších allopolyploidů je nesnadná, zvláště pokud neexistuje žádný dostupný referenční genom. Byly publikovány nějaké práce, které využívají některou ze současných metod celogenomového genotypování („genome-wide sequencing“)? Bylo by případně možné aplikovat tyto analýzy na polytopicky vzniklé allopolyploidy puchýřníků?

3)

V biologii obecně panuje spíše averze vůči apomiktickým taxonům, než že by byl všeobecně přijímán tzv. *microspecies concept*. Hovoří se občas o zaplevelení květen nesmyslnými druhy, objevují se snahy o agregování podobných morfotypů do komplexních taxonů. Jaký převažuje názor na apomiktické mikrodruhy v pteridologické komunitě?

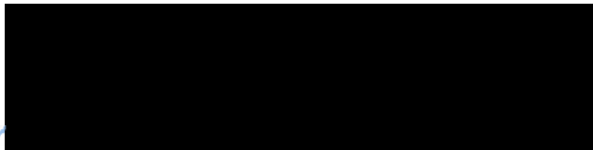
Autorův názor na apomiktické taxony u kapradin je známý. Ale je jeho názor na vědecký význam apomiktických taxonů u krytosemenných rostlin?

.....

Závěr

Habilitační práce RNDr. Libora Ekrta, Ph.D. „Stories of two life stages: reproduction modes, genome size, diversity and interactions among gametophytes and among sporophytes in ferns“ **splňuje** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Botanika.

V Olomouci, dne 16.01.2024

A large black rectangular redaction box covering the signature of the reviewer.

podpis oponenta

Posudek oponenta habilitační práce

Uchazeč	RNDr. Libor Ekrt, Ph.D.
Habilitační práce	Stories of two life stages: reproduction modes, genome size, diversity and interactions among gametophytes and among sporophytes in ferns
Oponent	Prof. RNDr. Pavol Mártonfi, PhD.
Pracoviště oponenta, instituce	Botanická záhrada a Prírodovedecká fakulta Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Slovensko

Predložená habilitační práce pána dr. Libora Ekrtu sa venuje rôznym aspektom životného cyklu papradí, interakciám medzi gametofytmi a sporofytmi, ich reprodukcií a z nej vyplývajúcim mikroevolučným dopadom, ale aj keď to nie je uvedené priamo v názve, nezanebáva ani štandardné taxonomické a chorologické štúdium reprezentantov tejto skupiny. Ako oponent som pri prijímaní tejto práce na oponentúru chvíľku aj zaváhal, či ju prijať, keďže sa papraďorastom špeciálne nevenujem, ale tematika reprodukčnej biológie rastlín, veľkosti genómu a polyploidizácie ma presvedčila a očakával som, že práca bude pre mňa zaujímavá aj z hľadiska mojich výskumných programov. A mal som dobrú predtuchu, v práci som sa nesklamal a považujem ju za jednu z najzaujímavejších habilitačných prác, ktoré som kedy oponoval (a bolo ich relatívne dosť). Rozsah prác, publikácie vo významných svetových časopisoch, ale predovšetkým prezentované výsledky vedeckej práce Libora Ekrtu sú skvelým základom pre jeho ďalší kvalifikačný rast a keby už pán doktor bol docentom, kľudne by som toto množstvo kvalitnej práce bral aj ako podklad na inauguráciu – tak významné a dôležité objavy sú jej náplňou.

Habilitačná práca začína krátkym úvodom na 4 stranách, ktorý čitateľa zavedie medzi starobylú skupinu rastlín – Monilophyta. Aj keď by text mohol byť spracovaný trochu obširnejšie, uvádza všetky relevantné informácie k problematike riešenej v práci. Druhá, tiež stručná časť práce – kontext habilitácie – na 10 stranách textu približuje všetky najvýznamnejšie výsledky výskumu Dr. Ekrtu s odkazmi na 13 publikovaných prác, ktoré nájdeme ako súčasť habilitačnej práce v jej ďalšej časti. Táto časť je doplnená o 7 strán použitej literatúry, čo len naznačuje rozľadenosť autora v problematike (samozrejme túto rozľadenosť najlepšie dokumentuje súbor citácií uvedených v 13 prezentovaných prácach a tento by obsiahol rádovo vyšší počet strán).

V materiáloch, ktoré som dostal k dispozícii je aj výsledok kontroly habilitačnej práce antiplagiátorským systémom, dokumentujúci prekryv 3,1% s inými prácami, čo je vynikajúci výsledok a nie je potrebné sa ním ďalej zaoberať (podobnosť je často v zoznamoch literatúry, ktoré je nevyhnutné odcitovať rovnako) a ostatné časti podobné iné práce sú „autoplagiátorské“ výstupy autora, ktoré ani nie je potrebné brať do úvahy, nakoľko jeden človek má svoj štýl písania a jednoducho jeho vlastné texty sa budú podobať na iné vlastné texty.

Z hľadiska metodológie a metodiky, ako aj študovaného materiálu autor používa viacero modelových druhov ako výskumnú bázu pre štúdium rôznych otázok. Spektrum používaných metód v jeho prezentovaných prácach zahŕňa tak zber živých rastlín v teréne, ako aj štúdium herbárových položiek, metódy chorologického štúdia, mikroskopické metódy a štúdium cytotypov, metódy multivariačnej morfometrickej analýzy, metódy cytometrické, komplexné metódy štúdia hybridizácie druhov ako aj molekulárne metódy (analýza plastidovej DNA aj mikrosatelitné techniky a ďalšie).

Výsledky publikovaných vedeckých prác s odkazmi na časti 2 sú reprezentované 13 publikovanými prácami z rokov 2010 až 2022, pričom 9 z nich je z posledných 4 rokov 2019–2022. Je pre mňa potešením sledovať, že ďalšie práce, ktoré nie sú predmetom habilitácie (ale tematicky na ňu nadväzujú), už vyšli aj v roku 2023. Tým habilitant potvrdzuje, že jeho záujem o vedeckú prácu podporený vedeckým talentom sa rozvíja aj ďalej. Ak si Dr. Ekrt uvádza z životopisu 349 citácií a H-index 13, ku dňu písania tohto posudku je počet citácií vo WOS bez autocitácií 386 a H-index 14 a v databáze SCOPUS dokonca 446 citácií bez autocitácií a H-index rovnako 14. To sú scientometrické parametre ktoré sú bez problémov porovnateľné so svetovou úrovňou v oblasti systematickej botaniky a evolúcie rastlín. Navyše, analýza pozície autora podľa databázy WOS ukazuje, že z 31 prác evidovaných

vo WOS Libor je v 26 % prvým autorom, v 19 % posledným autorom a v 29 % korešpondujúcim autorom článkov, čo jednoznačne naznačuje výrazný podiel na vzniku a myšlienkovom prínose týchto publikácií. Spektrum časopisov, v ktorých habilitant publikuje a ich kvalita, ktorá je deklarovaná predovšetkým kvalitou recenzného pokračovania a scientometrickými dátami časopisov reprezentovaných napríklad impakt faktorom alebo kvartilom v rámci odboru, jednoznačne ukazujú na špičkovú kvalitu vedeckých výstupov. Preto mi ako oponentovi ani neprináleží hodnotiť kvalitu prezentovaných článkov, ktorú zabezpečili renomovaní recenzenti v časopisoch a ich redakčné rady. Habilitant o svojej kvalitnej práci „presvedčil“ aj redakčné rady časopisov ako sú *Annals of Botany*, *American Journal of Botany*, *New Phytologist*, *Preslia*, *Journal of Systematics and Evolution* či *Botanical Journal of Linnean Society* a ďalšie.

Zameriam sa preto len na uvedenie najvýznamnejších výsledkov pána doktora, ktoré považujem za jedinečné a majúce veľký prínos pre pochopenie evolúcie a diverzity papraďorastov v súčasnosti ako aj k pochopeniu mechanizmov, ktoré k tejto diverzite viedli. Mimoriadne si cením štúdium vzťahov medzi sexuálnym a apomiktickým rozmnožovaním papradí, ktoré naznačuje zaujímavé súvislosti a poukazuje na význam apomiktického rozmnožovania, ktoré môže viesť zrýchleným spôsobom k tvorbe sporofytu papradí. Dosiachnutie meristickej fázy gametofytov, ktorá umožňuje tvoriť vajíčka alebo nepohlavne vzniknuté sporofyty je významným prvkom pochopenia špecifickosti jednotlivých častí životného cyklu papraďorastov. Ak do tohto procesu vstupujú antheridiogeny a ovplyvňujú v zmesi gametofytov pohlavie okolitých jedincov, ktoré sú v juvenilnejšom štádiu, tak ide o unikátny proces, ktorý vyplýva zo zvláštností reprodukčnej diverzity v tejto skupine. Zistenia z prác Dr. Ekrtu nás utvrdzujú v tom, že sú výnimočným podkladom pre pochopenie evolúcie nielen papraďorastov, ale aj evolúcie všetkých rastlín. Z ďalších výsledkov ma mimoriadne zaujala práca o asymetrickej hybridizácii stredo európskych populácií skupiny *Dryopteris carthusiana* s využitím analýzy chloroplastovej DNA. Táto, ale nielen táto práca ukazuje na schopnosť habilitanta kvalitne nadizajnovať vedecko-výskumný projekt, vybrať správne metódy na overenie primárnych hypotéz a dospieť k jedinečným výsledkom. Navyše vo výsledku ide o prácu, pri ktorej už pán Ekrt nie je prvým autorom práce, ale je ním Ondřej Horných, jeho prvý magisterský študent a neskôr aj doktorand v zmysle zrejme konzultanta doktorandskej práce (?). To poukazuje (aj na príklade ďalších bakalárov a magistrov) schopnosť habilitanta osloviť, zaujať a viesť ďalších študentov k výskumu v oblasti systematickej, reprodukčnej a evolučnej biológie, o je okrem samostatnej kvalitnej vedeckej práce nevyhnutným predpokladom pre udelenie titulu docent.

Dosiachnutie kvalitných vedeckých výsledkov je v dnešných časoch nemožné bez napísania a získania kvalitných projektov a Dr. Ekrt ukázal, že vie tieto projekty napísať (teda vybrať vhodnú tému, definovať ciele, určiť metodiku a dosiahnuť publikovateľné výsledky). Ukázalo sa to v menšom projecte INTERACT, ale hlavne v tom, že sa na roky 2019–2021 stal hlavným riešiteľom grantu GAČR venovanému otázkam dominancie medzi sexuálnymi a apomiktickými typmi papraďorastov. Toto je ďalší dôkaz, že dr. Ekrt je už vlastne dávno prakticky docentom, aj keď formálne ešte musí urobiť záverečný krok a obhájiť svoju habilitačnú prácu pred vedeckou radou fakulty.

Ako som už spomínal, Libor Ekrt pracuje so svojimi študentami, ktorých vedie aj vo vedeckej práci a vytvoril tak zo svojich študentov výborne fungujúci tím, ktorý prináša nové a nové výsledky. Nedá mi nespomenúť snahu o vytvorenie skupiny na prevádzkovanie najväčšej databázy veľkostí genómu papraďorastov a plavúňorastov pre budúce použitie ako aj FerDA (Fern and lycophyte genome databank and silica archive) projektu koordinovaného Dr. Ekrtom. Verím, že jeho entuziazmus, s ktorým sa venuje tak vedeckej ako aj pedagogickej práci prinesie neoceniteľnú bázu dát pre fylogenetické štúdie v budúcnosti.

Dotazy oponenta k obhajobe habilitační práce

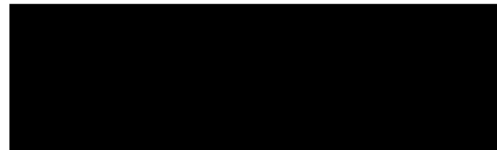
1. Vysvetlite o akú skupinu látok (chemicky) ide v prípade anteridiogenov a aký je ich mechanizmus ovplyvňovania pohlavia gametofytov. Ako vedľajší produkt týchto procesov sa vyskytujú prípady potláčania konkurencie. Viete uviesť príklady a hypotézy k tejto problematike?
2. Porovnajzte význam diplospórie a apomeiózy ako aj endopolyploidizácie a polyploidizácie ako mikroevoľučných faktorov v prípade papraďorastov a v prípade krytosemenných rastlín. Ktoré črty týchto procesov sú zhodné a ktoré sú špecifické pre jednotlivé skupiny? Dá sa navrhnúť jednotná schéma týchto procesov pre všetky cievnaté rastliny?

3. Objasnite rozpor medzi tým, že papraďorasty naznačujú existenciu korelácie medzi počtom chromozómov a veľkosťou genómu a iné skupiny cievnatých rastlín ju nenaznačujú. Čo môže byť príčinou tohto stavu?

Záver

Habilitačná práca RNDr. Libora Ekrta, Ph.D. „Stories of two life stages: reproduction modes, genome size, diversity and interactions among gametophytes and among sporophytes in ferns“ **spĺňa** požiadavky štandardne kladené na habilitačné práce v odbore Botanika.

V Košiciach, dňa 9. 12. 2023



podpis oponenta