Oponentský posudek na diplomovou práci:

Bc. Jan Ptáček: Mikroevoluční procesy u *Cystopteris fragilis* agg.

Diplomová práce se zabývá zejména cytotypovou strukturou jednotlivých fází životního cyklu druhu *Cystopteris fragilis*; pozornost je věnována i sporogenezi (počtu, velikosti a životaschopnosti výtrusů), součástí práce je i experimentální heteroploidní hybridizace.

Řešené otázky jsou významné a zajímavé, za velmi přínosné pak považuji využití u kapradin doposud velmi málo používaných metodických přístupů (např. hybridizace, využití průtokové cytometrie pro stanovení ploidie výtrusů, ale vlastně i obecně využití průtokové cytometrie, *in vitro* kultivace). Cíle práce jsou realisticky stanovené a dobře formulované. Metodické přístupy jsou v mnoha ohledech u zkoumané skupiny unikátní a rozhodně nejde jen o opakování běžně využívaných přístupů. Analýza získaných dat odpovídá jejich povaze a řešeným otázkám – statistické metody jsou v podstatě jednoduché, ale zcela postačující.

Po formální stránce je práce vhodně členěná, text je srozumitelný (viz ale připomínky níž), přehledný, styl odpovídá odborné studii. Rozsah a výběr použité literatury odpovídá řešenému problému.

Práce nejen významně doplňuje stávající poznatky o mikroevolučních procesech v ploidně smíšených populacích, přináší ale i zcela nové poznatky, např. první potvrzené údaje o apomixi v čeledi Cystopteridaceae; současně boří některé mýty tradované v pteridologické literatuře. Za cenné považuji i srovnání s apomixí u krytosemenných rostlin, mimo jiné upozornění na rozdílné významy některých termínů. Alespoň některé části určitě nebude problém publikačně zhodnotit (k práci je přiložen velmi zdařilý článek zveřejněný v časopisu Živa a je zmíněn i rukopis odeslaný do časopisu Journal of Biogeography).

K práci nemám zásadnější výhrady, uvádím jen několik menších připomínek:

V některých částech kapitoly Výsledky je mírně obtížné se správně orientovat a pochopit co chtěl autor vyjádřit – týká se to např. části 4.2.1. (Viabilita výtrusů, str. 43), kde je uvedeno „Téměř kompletně neživotaschopné výtrusy měla populace z Radzimu…“. Z obr. 29 (str. 48) je ale zřejmé, že viabilita byla zjišťována pouze u výtrusů pentaploidních rostlin (v textu to sice zmíněno je, ale dá se to snadno přehlédnout), které mají obecně velmi málo životaschopných výtrusů, nikoliv u tetraploidních a hexaploidních rostlin, které byly na této lokalitě také zjištěny (obr. 12). Některé formulace jsou neobratné (např. str. 48, poslední věta), u analýz variance by měly být uváděny F hodnoty, v popiskách obrázků s boxploty by měly být zmíněny počty měření/pozorování. Občas něco nehraje mezi Výsledky a Diskusí (počet výtrusů na jednu výtrusnici u tetraploidů je 55 ve Výsledkách a 50 v Diskusi).

str. 37: Nesouhlasí počet zkoumaných pentaploidních gamet v prvním odstavci (96) a v Tab. 7 (94).
str. 38, obr. 19: Pro diploidní a pentaploidní gametofyty jsou nevhodně použity velmi podobné odstíny modré barvy.

Pro diskusi během obhajoby navrhuji následující otázky:

1) Tetraploidní rostliny vytváří v převážné většině diploidní gametofyty, bylo ale zjištěno i malé procento tetraploidních gametofytů, které se pravděpodobně dále rozmnožují pomocí

obligátní apomixe. Dalo by očekávat, že takto vzniklé rostliny budou produkovat vyšší procento tetraploidních výtrusů? S tím souvisí i to, že tetraploidní populace mohou mít potenciálně různé zastoupení sexuálně a apomikticky vzniklých tetraploidů. Může se to nějak projevovat ve vitalitě populací?

2) Spíš jen moje úvahy – v úvodní části (str. 15) jsou zmíněny možné evoluční procesy vedoucí ke vzniku ploidní diversity u *Cystopteris fragilis*. Tetraploidní cytotyp je zřejmě alopolyploidního původu, další cytotypy pak vznikaly z tohoto cytotypu (analogie s americkým druhem *C. laurentiana*). Co ale jiné vysvětlení? Není možné, že jednolivé ploidie vznikaly zcela nezávisle z jiných ploidií (nebo třeba neredukovaných gamet) rodičovských druhů (případně jeden z rodičovských druhů mohl být mírně odlišný) a jde tudíž v podstatě o různé evoluční linie? Tomu by mohly napovídat i rozdíly v Cx hodnotách mezi cytotypy, zjištěné průtokovou cytometrií (a možná by šla vysvětlit i odlišnost křivoklátské populace). K interakcím mezi sympatrickými cytotypy pak samozřejmě docházet mohlo.

3) Velmi zajímavé jsou rozdílné způsoby reprodukce u pentaploidů z různých populací (viz např. str. 64). Autor se domnívá, že „tyto výsledky by mohly naznačovat evoluční cestu od neustáleného hybridu (Roztoky u Křivoklátu, nízká fertilita), přes mezistupeň (Oheb, smíšená populace) až po konečnou fázi ustáleného pentaploidního hybrida (Bělá pod Pradědem, apomixie)“. Jakým způsobem může docházet k „ustálení hybrida“?

4) Nedá mně to se nezeptat – fakultativní apomixe u kapradin. Jaký je na ni v současnosti názor? Může hrát nějakou zásadnější roli? Kdyby ano, byla by to v podstatě úžasná možnost pro evoluční procesy v polyploidních komplexech a pro vysvětlení vzniku některých ploidií.
V této práci byla zjištěna (a v poměrně nezanedbatelné frekvenci) u tetraploidního cytotypu, sporofyty ale následně nepřežily. Přesto se asi nedá úplně vyloučit, že občas něco přežije…

5) Ví se něco o tom, zda je frekvence redukovaných a neredukovaných výtrusů daná geneticky nebo může být ovlivňována i vnějšímu faktory?

6) V úvodu práce je zmíněn jeden z případů asynchronního dozrávání gametangií – nejprve jsou funkční antheridia a až později archegonia. Je u kapradin znám (a případně jaká je jeho frekvence) i opačný případ?

Předložená práce přináší i přes zmíněné menší výhrady velmi cenná originální data rozšiřující dosavadní poznatky o polyploidních komplexech u kapradin. **Doporučuji ji proto k obhajobě na katedře botaniky PřF UK a navrhuji hodnocení stupněm 1 (výborně).**

V Praze, 30. 5. 2018 Mgr. Jindřich Chrtek, CSc.