

Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Milana Kotilínka:  
**Průběh klíčení a mykorhizní asociace dvou druhů rodu *Neottia*.**

**Oponent:** Ing. Miloslava Kavková, Ph.D.

Práce Milana Kotilínka je obsažena v 48 stranách A4 včetně příloh. Jednotlivé kapitoly se obsahově vztahují k zadanému tématu a proporcionálně je považuji za adekvátní.

V úvodní části je charakterizována mykorhizní symbióza obecně a velice jasně a čtivě je popsána kapitola o orchideoidní mykorhize, včetně části " Houboví partneři". Ve většině odborné literatury, včetně fylogenetických studií, se houby, které jsou v práci správně a aktuálně řazeny do systému označují jako původní skupina " *Rhizoctonia* – like fungi", což bychom mohli počestit jako "houby podobné rodu *Rhizoctonia*" nebo "houby skupiny *Rhizoctonia*", každopádně, v češtině by asi bylo dobré psát *Rhizoctonia* s velkým R. Pakliže se na začátku kapitoly objevují v závorkách za rodovými jmény názvy čeledí, kam se příslušné rody řadí, zasloužily by si to všechny uvedené rody v textu, tedy i ektomykorhizní druhy podílející se na orchideoidní mykorrhize. To jsou ale detaily, které nijak nesnižují zcela přesný, jasný a aktuální souhrn dosavadních poznatků o houbových partnerech orchidejí. Cíle práce jsou jasně definované a zvolená metodika jim odpovídá.


Ráda bych uvedla, že Milanovi prošlo rukama 78 965 tisíc semen *N. ovata*, zhruba půl na půl z lesích a lučních lokalit a 7018 semen *N. cordata*, které vkládal do fotorámečků a sledoval na vybraných lokalitách jejich klíčivost resp. tvorbu protokormů. U protokormů následně pomocí molekulárních metod sledoval výskyt houbových symbiontů a porovnával druhové spektrum se symbionty dospělých rostlin. Ve výsledku analyzoval a následně zařadil do taxonomických skupin houby vyizolované z 34 protokormů *N. ovata*, 26 dospělců *N. ovata* a 14 dospělců *N. cordata*. Tímto stručným souhrnem bych chtěla poukázat na to studentův multidisciplinární přístup tj. konkrétně schopnost pracovat v terénu a následně v laboratoři. Výsledky považuji za zdařilé a předpokládám, že budou po úpravách publikovány. K sekvenačním výsledkům bych měla dotaz, zda považujete jednostranné sekvenování u hub za dostatečné?

Diskuze je relevantní a vychází ze všech poznatků a studií, které byly na uvedené problematice popsány a publikovány.

Na závěr bych měla ještě otázku: Jak jste uvedl v rešerši a i ve vašich výsledcích je to jasně patrné, ne všichni orchideoidní mykorrhizní symbionti jsou výhradně symbionti, ale převážně saprofyté a tedy fakultativní symbionti. Do skupiny hub typu "*Rhizoctonia*" patří, ale také druhy včetně zástupců rodu *Rhizoctonia* sp. s výraznými parazitickými vlastnostmi (sapro-parazité). Nemohou se tyto podílet na úmrtnosti protokormů nebo limitovat klíčení semen?

Celkově hodnotím práci Milana Kotilínka velmi kladně a hodnotím ji jako výbornou.

Ing. Miloslava Kavková, Ph.D.



V Českých Budějovicích, 11.1.2013

## Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Milana Kotilínka "Průběh klíčení a mykorhizní asociace dvou druhů rodu *Neottia*"

Předložená práce se zabývá klíčením dvou druhů rodu *Neottia* (*N. cordata* a *N. ovata*) a spektrem symbiotických hub v jejich protokormech a kořenech. Cílem bylo především odhalit rozdíly mezidruhové, stanovištní a efekt původu mateřských rostlin na cílových lokalitách v NP Šumava. Práce obsahuje celé spektrum metodických přístupů od terénních měření až po molekulární analýzy. I přes to, že některých cílů dosaženo nebylo, neboť především druh *N. cordata* často se studentem plně nespolupracoval (neplodil, neklíčil), podařilo se shromáždit velké množství poznatků o ekologii těchto druhů. K práci mám následující komentáře a otázky:

**Úvod:** Úvod je čtivý a nemám k němu vážnějších připomínek.

**Metodika:** řádek 10-18 strana 8 Vzhledem k tomu, že u nás je spíše obvyklejší řazení cílových rostlin do rodu *Listera*, uvítal bych alespoň zmínku o tom, proč student považuje za vhodnější řazení do rodu *Neottia*. V každém případě však musí být názvy rostlin opatřeny správnými jmény autorů tj. *Neottia cordata* (L.) Rich. a ne *Neottia cordata* (L.) R. Br. a *Neottia ovata* Bluff & Fingerh. a ne *Neottia ovata* (L.) R. Br. Nelze prostě vzít jména z Procházky a pouze slovo *Listera* nahradit slovem *Neottia*.

řádek 11-17 strana 13 Nejsem si jist, zda lineární model, ve kterém student testoval vliv původu a biotopu, byl nejlepší volbou. Jak student uvádí, ve většině rámečků se protokormy nevyvinuly. Data tedy asi vypadala tak, že bylo strašně nul, za kterými následovala nějaká distribuce. Taková data pak obvykle nesplňují požadavky parametrických testů a nepomáhá ani jakákoli transformace (ani logaritmická, kterou student použil). Pakliže data vypadají tak jak se domnívám, doporučoval bych užít permutačních testů.

řádek 16-17 strana 13 V případě logaritmické transformace by bylo dobré upřesnit, jak byla transformace provedena Log, Ln, Log +1, Ln+1?

### Výsledky:

Obr. 4. Graf byl do práce zřejmě exportován ze statistického programu formou Ctrl-C..Ctrl-V a vypadá dost strašně. Když opomenou malé rozlišení, mohly být alespoň popisky os se správnou diakritikou. Také poslední věta v popisu grafu „K jednotlivým.....“ je dost nepochopitelná. Myslí tím student to, že posouval body v grafu tak, aby byly lépe vidět?

Obr. 5. Asi by bylo dobré permutační testy trochu strukturovat tj. zvlášť testovat rozdíl mezi *N. ovata* a *N. cordata* a zvlášť rozdíl mezi *N. ovata* louka a *N. cordata* les.

řádek 1 strana 24. Nemám celkem nic proti používání zkratk, ale v názvu kapitoly bych raději použil celý název: Transmisní elektronová mikroskopie (TEM).

### Diskuze:



řádek 3- 10 strana 25. Ví se, třeba i u jiných druhů našich orchidejí, jaká je meziroční variabilita v klíčení. Existují třeba jakési „klíčící roky“, kdy semena klíčí mnohem lépe než v „neklíčících“ letech?

řádek 16-20 strana 25. V Americe byly determinovány jako opylovači i jiné čeledi dvoukřídlých a blanokřídlých a *N. cordata* bude asi více generalizovaná (viz. Ackerman a Mesler 1979, American Journal of Botany 66: 820-824). Bylo by také dobré porovnat se spektrem opylovačů druhu *N. ovata* (např: Nilsson 1981, Nordic Journal of Botany 1: 461-480)

řádek 9 strana 26. „Skladování semen v ledničce se však běžně praktikuje“ ....trochu v kontrastu s větou na začátku odstavce „U žádného autora jsem nenašel zmínku o skladování v chladu“....autor asi myslel , že se tak děje u zcela jiných druhů...nebo u jiných druhů orchidejí?

Přes všechny uvedené výhrady si myslím, že student odvedl velký kus práce na zajímavém tématu. Navrhuji hodnotit stupněm výborně.

V Třeboni 10.1.2013

Štěpán Janeček