

Oponentský posudek na diplomovou práci bc. Lady Klimešové

## Amelioration of orchid germination in restored grasslands

Předkládaná diplomová práce se zabývá možnostmi zlepšení klíčivosti semen orchidejí na obnovovaných loukách pomocí hub tvořících orchideoidní mykorhizu. Na 9 obnovovaných loukách v Bílých Karpatech byly testovány 4 druhy orchidejí a 5 kmenů hub z rodu *Tulasnella* a *Ceratobasidium*, pocházející z blízkosti těchto luk. Na každé louce byla 1 plocha 7 x 10 m rozdělená na 1 x 1 m čtverce (jednotlivé varianty, viz Obr. S2). Cílem bylo zjistit, zda přidání inokula mykorhizní houby zvýší klíčivost orchidejí. Dále zda tato klíčivost závisí na množství dané houby, době uplynulé od začátku obnovy louky a míře specifity dané orchideje. Celý experiment je velmi pečlivě zpracován a přináší přesvědčivé a prakticky použitelné výsledky.

Celá práce se skládá ze 45 stránkového manuskriptu článku 6 autorů (Lada Klimešová je prvním autorem) a 1 strany úvodu. Jak autorka uvádí, je součástí grantového projektu konzultantky a byla řešena v širokém autorském týmu, část laboratorní a terénní práce byla provedena technikou. Z výše uvedeného vyplývá určitá obtížnost hodnocení práce samotné autorky, proto považuji za důležité, aby byl podíl vlastní práce lépe upřesněn.

Jak přesně a čím se autorka podílela na designu vlastního experimentu?

Jak konkrétně si představit objem práce, který udělala v laboratoři? Předpokládám, že existují laboratorní záznamy, ze kterých to lze poměrně přesně odhadnout, včetně toho, která část práce byla pod vedením kterého ze spoluautorů.

Dále by bylo dobré vědět, zda autorka řídila práci techniků nebo byla zodpovědná pouze za část práce a technici pracovali přímo pod vedením její školitelky.

Co se týče předloženého manuskriptu, jedná o verzi, která byla zatím konzultována s školitelkou a konzultantkou a ostatní z uvedených autorů se k němu ještě budou vyjadřovat?

Autorka navazuje ve své práci na výsledky své bakalářské práce. Jsou v manuskriptu i tyto výsledky?

### Předmluva

Předmluva stručně nastiňuje problematiku orchidejí a jejich symbiózy s houbami a využití molekulárních metod při obnově a posílení populací orchidejí.

Zajímalo by mě, zda se autorka opravdu domnívá, že jedinou cestou k udržení populace orchidejí je jejich aktivní obnova? Není tvrzení "This is a way for restoration of threatened orchids species in 21<sup>st</sup> century" příliš odvážné? Někdo by mohl nabýt dojmu, že zničení cenných biotopů není fatální, když některé vlajkové druhy lze s dostatečným množstvím peněz, plastu a chemikálií nutných k molekulární práci vypěstovat jinde. Navíc, jak v článku autoři přiznávají, neví se, jak bude pokračovat další vývoj protokormů a rovněž introdukce hub, které by nepocházeli z okolí cílové lokality je přinejmenším sporná a není znám jejich vliv na přítomná houbová společenstva.

Termín "mykorhizní houby" je v tomto kontextu příliš široký, je potřeba jej omezit na ty, které jsou schopny tvořit mykorhizní symbiózu s orchidejemi. Termín „restored habitat“ se mi zdá taky příliš široký. Jaké jsou limity studia interakcí orchidejí a hub pomocí molekulárních metod?

### Úvod

Odpovídá svým rozsahem spíše diplomové práci než článku, předpokládám, že bude ve finální podobě ještě zkrácen. Zajímalo by mě, co autorka myslí větou: „Even if spontaneous succession is a very cheap option, it cannot be applied on sites where we expect particular ecosystem services, or where target

community type needs regular management, for example restoring grasslands for fodder production on former arable land (Valkó, 2016)".

Jak si představit „přirozenější stav živin v půdě"? „In general, the early stage is characterized by prevalence of bacteria over fungi in soil, with the latter increasing in dominance when the soil nutrients start to change to more natural stadium (Van der Wal et al., 2006b; Maharning et al., 2009)."

#### Metodika

Je až na pár drobností jasná. Např. to, jak byly ukládány balíčky semen jednotlivých druhů orchidejí, jsem pochopila až z výsledků, mělo by to být lépe vysvětleno v metodice. V některých tabulkách jsou desetinné čárky místo teček. U Tab. 2 by mělo být uvedeno, že průměrné hodnoty pochází z okolí lokalit, kde byl proveden experiment. Většinou se uvádí metoda analýzy půdy, ne pouze pracoviště.

V části „Orchid seed selection" by mě zajímalo, jak se zjišťovala vitalita semen.

Až v části „In vitro experiment" se čtenář dozví, že testovaných izolátů bylo pět. Není jasné, jak se k nim došlo a kolik bylo původních. Mluví se o several orchid species at several localities..... (Sample collection for fungal isolation).

Z jakého důvodu byla *Platanthera bifolia* testována s izolátem Cer1 a ne Cer2?

Kdo designoval specifické primery a z jakého důvodu se nepodařily primery pro Cer?

Kterým popsáním druhům jsou geneticky nejbližší studované izoláty a jaká je ekologie těchto druhů?

Proč byly purifikovány jen amplikony o nízké koncentraci? (str.16)

#### Výsledky

Jasně a přehledně prezentované, pouze u grafu *Gymnadenia conopsea* je chybně popsána osa x.

Jak si autorka vysvětluje, že se neprojevil vliv doby od začátku obnovy louky?

#### Diskuze

Je adekvátního rozsahu, vyjadřuje se k jednotlivým bodům hypotéz s odkazy na přiměřené množství literárních zdrojů.

Vyjádření „Survival of inoculated fungi was compared between species and it was confirmed that all fungal isolates survived although they did not induce germination of all studied orchid species *in situ*." působí dojmem, že by testovány všechny izoláty všude. Může autorka upřesnit, co bylo testováno a o jaké procento ze všech variant se jednalo?

Lze odhadnout, jak by se protokormy dále vyvíjely a jaký bude osud introdukovaných kmenů?

Předložená práce splňuje požadavky kladené na diplomové práce na PŘF JU a doporučuji ji k obhajobě. Pokud autorka uspokojivě zodpoví kladené dotazy, hodnotím stupněm **výborně**.

V Českých Budějovicích, 9.5.2019



Martina Vašutová

Katedra botaniky PŘF JU

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

## **Oponentský posudek na diplomovou práci Lady Klimešové „Amelioration of orchid germination in restored grasslands“**

Předložená práce se zabývá obnovou populací orchidejí na loukách obnovených na orné půdě. Práce byla provedena v regionu Bílých Karpat, kde na zachovalých loukách má řada druhů orchidejí relativně početné populace. Značné rozlohy luk tu však byly v minulosti kvůli zintenzivnění zemědělské produkce rozorány a tyto stanoviště orchidejí byly zničeny. Později byly louky opět obnoveny, nicméně orchideje se na obnovených loukách uchycují jen velmi výjimečně. Práce pomocí laboratorního a terénního experimentu testuje hypotézu, že uchycení orchidejí je limitováno ve stádiu klíčení semen nedostatkem symbiotických hub v orbou pozměněné půdě.

Práce je psaná anglicky stylem vědeckého článku. Jazyk práce je na dobré úrovni a text je srozumitelný. Nejasné nebo nepřesně formulované věty jsou spíše vzácné. Úvod práce je nicméně vhodný svým rozsahem spíše do diplomové práce než do vědeckého článku, pro který by potřeboval zkrátit. Není například nutné uvádět všechny způsoby obnovy luk, pokud se provedených experimentů netýkají. Detailnější popis zkoumané oblasti je vhodnější přesunout do popisu metod.

Práce používá k zodpovězení výzkumných otázek vhodné metody, které umožňují vyhodnotit vliv inokulace půdy houbami na klíčení 4 druhů orchidejí a identifikaci kmenů hub podporující klíčení. Data jsou analyzována vhodnými statistickými metodami. Vzhledem k částečně odlišným přístupům k jednotlivým druhům orchidejí je prezentace výsledků pro čtenáře občas hůře srozumitelná.

Výsledky jsou vhodně zasazeny do širšího kontextu a jsou vhodně diskutovány. Myslím, že autorka formuluje závěry zbytečně měkce. Pro klíčení minimálně 3 druhů ze čtyř byla inokulace houbami velmi důležitá.

Autorky bych se rád zeptal, co považuje za hlavní příčinu nedostatku hub v půdě obnovených luk a jejich pomalého návratu?

Celkově považuju práci za zdařilou a navrhuju ji hodnotit stupněm výborně.



V Třeboni 14. 5. 2019,

RNDr. Ondřej Mudrák, Ph.D.