

V Praze dne 2. 9. 2011

Věc: oponentský posudek na disertační práci Mgr. Evy Koutecké nazvanou „Ecological comparison of three closely related species from *Myosotis palustris* group“

Předložená disertační práce se skládá ze čtyř původních vědeckých prací, z nichž dvě již byly publikovány v časopisech Folia Geobotanica a Preslia. Dvě z předložených prací jsou v současné době pravděpodobně v recenzním řízení. Eva je ve všech případech prvním autorem, což dokládá její podstatný vliv na vznik všech předložených vědeckých prací v disertační práci. Znalost studované problematiky je dále doložena pátou vědeckou prací uvedenou v příloze, která byla publikována v časopise Flora a Eva je zde také prvním autorem.

Eva se ve své práci zaměřila na studium ekologie tří blízké příbuzných druhů pomněnek ze skupiny pomněnky bahenní. Využívala observační přístup přímo v terénu (kapitola 6), kde studovala druhové složení společenstev s výskytem tří studovaných druhů. Využila manipulativního experimentu přímo v terénu, v němž transplantovala studované druhy na různé jiné lokality (kapitola 5). Využila nádobového pokusu, kde zkoušela vliv různých substrátů a konkurence na růst studovaných druhů (kapitola 4). Využila také skleníkového pokusu, kde zjišťovala klíčivost semen studovaných druhů (kapitola 3). Z pohledu využitých různých přístupů, je tak práce velmi pestrá.

Na práci se mi líbí:

- 1) Disertační práce je tematicky sourodá, a proto není problém všechny předložené články propojit společným úvodem.
- 2) Oceňuji využití různých přístupů při studiu ekologie vybraných druhů. Závěry tak mají obecnější platnost, protože jsou podpořeny různými přístupy.
- 3) Velmi cenná je poznámka o vnitrodruhové variabilitě, která bývá často přehlížena. Vnitrodruhová variabilita zjišťovaných proměnných je u studovaných druhů značná a poukazuje na to, že výsledky založené na studiu jedné populace mohou být jen obtížně zobecnitelné.
- 4) Velmi cenné je zjištění, že druhy, které jsou považovány na základě pozorování v terénu za krátkověké, mohou být ve skutečnosti vytrvalé. Toto zjištění ukazuje na velký význam manipulativních studií při zpřesňování informací k ekologii jednotlivých druhů.
- 5) články jsou psané dobrou angličtinou a jsou srozumitelné.

Kritické poznámky a náměty do diskuse:

- 1) Proč nebyla při sběru semen zjišťována také jejich hmotnost? Hmotnost semen může vysvětlovat rozdíly v klíčení mezi jednotlivými druhy.
- 2) Žádný vliv zeleného světla na klíčení může být také dán tím, že semena byla před započítím pokusu na denním „nezeleném“ světle. Podle mých znalostí ke klíčení často stačí krátkodobý světelný impulz. Byl pokus založen ve tmě nebo za denního světla?
- 3) Pokus byl založen poměrně s velkým časovým odstupem po sběru semen. Může mít na klíčivost vliv také skladování semen? Jaká je klíčivost bezprostředně po sběru semen? U semen se může uplatňovat proces, který se nazývá „afterripening“ a semena bezprostředně po sběru nemusí klíčit. Bylo klíčení bezprostředně po sklizni také zjišťováno?

1.

- 4) Při udávání obsahu živin v substrátu je vždy nutné uvádět, o jaké obsahy se jedná. Jedná se o totální nebo rostlinou dostupné obsahy živin v kapitole 4? Jak je to s N? Lze vůbec uvádět rostlinou dostupný N v substrátu?

Závěr

Není sebemenších pochyb o tom, že Eva studované problematice rozumí. Předloženou práci považuji za kvalitní, a proto ji jednoznačně doporučuji k obhajobě.

Prof. RNDr. Michal Hejcman, Ph.D. et Ph.D.

2.

Oponentský posudek na doktorskou práci Evy Koutecké

"Ecological comparison of three closely related species from *Myosotis palustris* group".

Předložená doktorská práce se zabývá srovnávacím studiem tří blízce příbuzných taxonů z okruhu bahenních pomněnek. Tyto taxony, mimo jejich blízké, leč dosud ne zcela popsané fylogenetické vztahy, spojuje i podobná ekologická nika (vlhká stanoviště) a podobná morfologie. Morfologicky je z tohoto okruhu nejodlišnější *M. caespitosa*, a lze předpokládat, že i ekologické podmínky stanovišť druhu budou odlišné od ostatních studovaných taxonů. Logické by v tomto ohledu bylo zařazení taxonu *Myosotis palustris* subsp. *palustris* do srovnání, nicméně autorka jej nestudovala, což je škoda. Práce však byla geograficky omezena na území jižních Čech a části Českomoravské vysočiny, kde se zmiňovaný poddruh patrně (viz Květena ČR) nevyskytuje.

Na práci oceňuji její komplexnost ve smyslu začlenění jak deskriptivního tak experimentálního přístupu. Případné ekologické rozdíly v realizované nice mezi taxony je pak možno dobře korelovat s rozdíly v druhových charakteristikách. Na práci se mi dále líbí, že autorka prováděla experimenty jak v podmínkách pokusného skleníku/zahrady tak i v terénu (transplantační experimenty), což významně zvyšuje kvalitu výstupů a může tak odfiltrovat případné extrémní reakce rostlin na zásahy, se kterými se rostliny v přírodě nesetkávají.

Významným kladem práce je zohlednění míry mezipopulační variability. Jak autorka trefně poznamenává, většina srovnávacích studií blízce příbuzných druhů pracuje pouze s jednou "typickou" populací nebo naopak se směsí genotypů z více populací (např. autorkou zmiňované studie na kapradinách rodu *Dryopteris*) bez možnosti rozlišení míry mezi- a vnitropopulační variability. Toto opomenutí může vést v extrémním případě k paradoxním výsledkům. Obzvláště nebezpečná může být taková situace především u polyploidních komplexů s významným podílem asexuálního rozmnožování, kdy mohou cytotypy (taxony) vznikat opakovaně polytopicky. Teoretické modely i příklady na některých taxonech pak ukazují, že takto vzniklé typy vykazují výraznou lokální adaptaci, a tedy např. široká ekologická amplituda taxonu (druhu) je výsledkem existence řady lokálně adaptovaných typů s úzkou ekologickou amplitudou. Studium na jedné takové populaci pak může poskytnout velmi nepřesný obraz ekologie druhu. Alternativním vysvětlením široké ekologické amplitudy a vysoké variability ve znacích však může být vysoká fenotypová plasticita taxonu, opět často v důsledku polyploidního stavu, kdy přítomnost většího počtu kopií genomu umožňuje pufraci odpovědi na variabilitu podmínek prostředí a sexuální rozmnožování může variabilitu generovat. Rozlišení mezi těmito dvěma možnostmi však vyžaduje užití jiného designu experimentů. Pro budoucí studium je to ale vhodné téma, obzvláště u *Myosotis palustris*.

Autorka provedla výběr sledovaných charakteristik poměrně vhodně na základě publikovaných údajů. Přesto - ačkoliv je v doktorské práci věnována velká pozornost přežívání rostlin, frekvenci kvetení, vegetativnímu rozmnožování a klíčení semen, poněkud postrádám údaje o produkci semen a reprodukční biologii taxonů. Přitom lze předpokládat, že by se produkce semen a patrně i reprodukční mód měly/mohly lišit mezi taxony, už s ohledem na další rozdílné funkční charakteristiky, které taxony dle předložených výsledků vykazují.

Po formální stránce je práce poměrně kvalitně vypravena, i když více nesrovnalostí jsem našel v kapitolách III a V.

V následujícím textu komentuji vybrané části disertace a připojuji několik dotazů:

Kapitola 3

Kapitola přináší data o klíčivosti a rychlosti klíčení tří srovnávaných taxonů za skleníkových podmínek. Autoři testovali vliv externích faktorů, které považovali za důležité na základě předběžné znalosti nároků taxonů na prostředí. Práce přináší zajímavá data, nicméně je škoda, že nebyl taktéž v práci proveden experiment přímo *in situ*. Ke kapitole mám následující připomínky resp. dotazy:

Experiment 1:

- a) Semena byla skladována přes zimu v netypických podmínkách a poté vysévána do skleníku, kde, jak autoři uvádějí, byla vystavena poměrně vysokým teplotním fluktuacím. Tak vysoké kolísání je sice běžné např. na obnažených rybníčních dnech, ale je dle mého názoru dosti atypické pro větší část biotopů, kterou osidlují dva ze studovaných taxonů (*M. palustris*, *M. nemorosa*), alespoň po větší část sezóny. Mohla by autorka popsat, jaký je sezónní průběh klíčení sledovaných taxonů v přirozených podmínkách, i když připouštím, že částečné zmínky se objevují v diskusi popř. v kapitole IV a V? Je v tomto případě (dostatek vlhkosti) rozhodující teplota?
- b) Na jakém substrátu byla semena vyseta? Byla nějak ošetřena proti chorobám? Nikde v textu jsem se to nedozvěděl.
- c) Byla sledována životaschopnost semen, která nevyklíčila, např. tetrazoliovým testem? Z textu vyplývá, že se tím autoři nezabývali. Mohlo by to něco říci o míře dormance (viz i níže).
- d) Zmiňovaná vysoká mezipopulační variabilita v klíčivosti je sice diskutována jak v této kapitole, tak i v kapitole V, nicméně se omezuje na obecné sdělení. Mezipopulační variabilita je nejvyšší u diploidní *M. nemorosa*, ale i např. v kap. V autorka uvádí odchylnou reakci jedné populace *M. caespitosa*. Jakou roli zde může hrát rozdílná ploidie studovaných taxonů? Co je známo o reprodukční biologii u studovaných taxonů, mj. vzhledem k jejich rozdílnému ploidnímu stupni a životnímu cyklu? Lze např. očekávat, že u populací krátkověkých taxonů může hrát větší roli autogamie. Nemůže být např. extrémní reakce nějaké populace dána tím, že se může jednat o jiný cytotyp? Ačkoliv literatura z území ČR (Štěpánková 1993) uvádí pouze jeden cytotyp na každý sledovaný taxon, z okolních zemí jsou udávány i další cytotypy. Řada recentních studií přitom detekuje výraznější cytotypovou variabilitu při analýze větší velikosti vzorků.
- e) Autoři v textu uvádějí, že u *M. caespitosa* klíčilo často 100% semen, ale zároveň že druh vykazoval (na rozdíl od ostatních dvou taxonů) vyšší klíčivost starých semen než čerstvých a tedy že druh vytváří trvalou půdní banku semen. Semena byla uchovávána při pokojové teplotě, ale tento způsob uchovávání semen v přírodě neexistuje. Jak si autoři představují ty tzv. less favourable conditions, za kterých semena neklíčí a vytvářejí semennou banku? Kolik let mohou být semena v půdní bance? Prosím alespoň o kvalifikovaný odhad.

Kapitola 4

Kapitola přináší výsledky vlivu kompetice a dvou typů substrátu na přežívání, růst a kvetení sledovaných taxonů v květináčovém experimentu. Autoři potvrdili očekávání, že studované druhy jsou konkurenčně slabé, ale *M. caespitosa* reagovala nejvíce negativně na kompetiční tlak. Zajímavé

jsou též údaje o délce života jedinců, kdy se ukázalo, že všechny tři sledované taxony mohou přežít i několik sezón, a data o počtu a délce stolonů resp. rhizomů, kterými se studované liší a které se ukazují jako vhodné adaptace ve specifických podmínkách prostředí, které taxony osídlují.

Ke kapitole mám následující připomínky resp. dotazy:

- a) Ačkoliv je popis designu experimentu podrobný, řada údajů mi v textu chybí. Domnívám se, že některé mohou podstatně ovlivnit reakce rostlin. Tedy: (i) Jaký rozměr měly květináče?, (ii) jaký typ substrátu byl použit, (iii) při přesunu květináčů do zahrady byly tyto volně položeny na půdní povrch nebo na netkanou textilii? Lze předpokládat, že (i v závislosti na typu použitého kontejneru) mohly kořeny rostlin prorůst do půdy pod květináči, a tedy dostatečně zásobovat rostliny živinami/vodou.
- b) Podmínky pokusné zahrady byly patrně dosti odlišné od stanovištních podmínek přirozených populací druhů, mj. alespoň *M. caespitosa* a *M. palustris*.
- c) Nakolik je častý společný výskyt *Holcus lanatus* s *M. caespitosa* v přírodě? Jak intenzivní byla kompetice medvědky? Z vlastní zkušenosti s podobným typem experimentů bývá často kompetitor extrémně agresivní, s vysokou produkcí.

Kapitola 5

Další kapitola přináší výsledky recipročního transplantačního pokusu. Cílem bylo zjistit, zda-li srovnávané taxony budou vykazovat vyšší relativní fitness na lokalitách svého výskytu než na lokalitách výskytu ostatních taxonů. Nejedná se ale o přímý test lokální adaptace na úrovni populací, protože **většina** použitých populací nepocházela z lokalit, na které byly poté vypěstované semenáčky vysazovány. V tomto by mě zajímalo, nakolik mohl ovlivnit výsledky fakt, že u několika (tří) experimentálních lokalit však byly vysazovány jedinci pocházející ze semen z této lokality? Vedle toho autoři studují klíčivost semen sledovaných taxonů v přirozených podmínkách a existenci semenné banky.

Kladně hodnotím začlenění manipulované intenzity lokální kompetice na mikroškále jednotlivých lokalit, tento přístup je originální a v kontextu podobných studií nový.

Založení a udržení takového typu experimentu v přírodě je poměrně obtížné, obzvláště na dynamických stanovištích, jakou jsou např. břehy rybníků či potoků. Lze tedy pochopit nízké počty experimentálních lokalit i nízký počet vysazovaných populací. Přesto pouze jediná použitá lokalita u *M. caespitosa* je málo, přičemž dynamika stanovišť vedla k jejímu zničení v druhém roce. Obdobně byly zničeny lokality *M. palustris* subsp. *laxiflora* po druhém roce.

Ke kapitole mám následující připomínky resp. dotazy:

- a) v popiskách obr. 1-7 je chyba, není jasné, jaké symboly patří jakému taxonu, resp. zásahu. U obr. 2 jsou posunuté popisky osy x.
- b) chtěl jsem prostudovat přílohu 5, ale bohužel jsem ji v disertaci nenašel.

- c) pouhé obsahy dusíku a uhlíku v půdě zase tak moc nevyovídají o obsahu živin v půdě (viz např. příloha 4).

Kapitola 6

Poslední kapitola porovává stanoviště a mezidruhové vazby studovaných taxonů v zájmovém území pomocí klasického fytoecologického přístupu. Rozdíly v ekologických nárocích sledovaných taxonů dobře korelují se získanými údaji o jejich biologii, alespoň na studované prostorové škále. Bylo by jistě velmi zajímavé rozšířit tuto studii na větší geografickou škálu resp. využít dat z České národní databáze, ačkoliv mi není známo, kolik snímků je takto dostupných a nakolik je možno se spolehnout na správnou determinaci taxonů.

Ke kapitole mám následující připomínky resp. dotazy:

- a) str. 125, první věta: To, že nebyly téměř nalezeny smíšené populace druhů, ještě nemusí znamenat, že se taxony liší v ekologických nárocích.
- b) str. 126-127: zmatek v obrázcích a popisku k obrázku 2, chybí zobrazení trendů Ellenbergových hodnot v obrázku.
- c) Mohla by autorka vysvětlit, nakolik se liší jí použitý výpočetní postup a interpretační možnosti při hledání druhů, které predikují výskyt/pokryvnost jednotlivých taxonů od "klasického" modelu, kdy se provede např. CCA na fytoecologických snímcích jako odpovědní proměnné a pokryvností sledovaných pomněnek jako testované proměnné?
- d) v tabulce 2 se objevují neurčené psinečky a vrbovky. O jaké taxony může jít s největší pravděpodobností?
- e) str. 130: ve všech kapitolách práce se opakuje srovnání s dalšími komplexními studie blíže příbuzných taxonů. Připadá mi, že autorka se snaží opakovaně dokázat, že studium biologie a ekologie blíže příbuzných taxonů má smysl, přičemž podporou mají být uvedené práce. V této kapitole se ale trochu účelově a nadbytečně opakují tato data jak v úvodu (kde je to dle mého názoru vhodné) a v diskusi, kde je to poněkud zbytečné, obzvláště když to není nijak více diskutováno/propojeno se získanými daty.
- f) autoři diskutují rozdíly v charakteristikách biotopů, které osídlují studované taxony, ale pro lepší představu bych uvítal tabulku s deskriptivní statistikou sledovaných charakteristik prostředí (mj. vlhkost, stínění), resp. pokryvností pater.
- g) v diskusi (str. 129-133) se částečně opakuje na dvou místech srovnání ekologických rozdílů zjištěných v této kapitole s předchozími (experimentálními) studiemi. Bylo by vhodné diskusi v tomto ohledu přepracovat.

Závěrečné doporučení

Předložená doktorská práce představuje zajímavou studii biologie a ekologie blízce příbuzných taxonů. Vhodně kombinuje experimentální a deskriptivní přístupy a přináší řadu originálních vědeckých poznatků. Práci doporučuji k obhajobě.

V Olomouci 12.9.2011



Martin Duchoslav

katedra botaniky PŘF UP Olomouc