

Oponentský posudek magisterské diplomové práce vypracované na katedře botaniky PŘF JU

Oponent: Tomáš Hájek

Diplomantka: Františka Kašparová

Téma práce: Ekofyziologické a morfologické rozdíly mezi domácími a invazními populacemi *Lythrum salicaria* L.

Školitel: Stanislav Mihulka

Konzultantka: Daša Bastlová

Předkládaná práce hodnotí výsledky sezónního zahradního nádobového experimentu, který tématicky navazuje na projekty konzultantky D. Bastlové. Jako celek je práce poměrně přehledná, výsledky a diskuse sledují hypotézy a vytyčené cíle, použité metody jsou adekvátní. Práce je dost stručná (23 stran), ale např. hypotézy, popisy metod a diskuse by zasloužily více prostoru. Přes řadu školáckých nepřesností a opomenutí neshledávám zásadní nedostatky v návržení a provedení experimentu a interpretaci výsledků, i když považuji přinejmenším za nešťastné předčasné ukončení kultivací ještě před vykvetením některých populací z důvodu polámaní přerostlých rostlin větrem. Určité pochybnosti mám u statistického vyhodnocení. Práci navrhuji hodnotit stupněm **velmi dobře** za předpokladu její úspěšné obhajoby.

Náměty k diskusi během obhajoby:

1. Ve výčtu hypotéz dominuje fráze „...hypotézou je, že se populace *L. salicaria* ... liší“, aniž by byl naznačen mechanismus, proč očekávat, že se budou populace ve vybraných parametrech lišit, čili proč jsou právě tyto parametry sledovány. U maximální rychlosti fotosyntézy je odpověď nasnadě, ale proč by se mohly populace lišit v obsahu pigmentů a jejich poměrů nebo SLA?
2. V metodách zjišťuji, že byly měřeny tzv. světelné křivky, závislost rychlosti fotosyntézy na ozáření, ačkoli jde o časově dosti náročný protokol (devět hladin ozáření místo potřebných dvou). Ve výsledcích zjišťuji, že z části světelné křivky byl vypočítán kvantový výtěžek asimilace CO₂ a kompenzační ozáření, které se mezi populacemi pravděpodobně nelišily. Více se o těchto parametrech v práci nedozvíme. Jaký je ekofyziologický význam obou parametrů a co naznačují naměřené hodnoty? Co bylo míněno tvrzením, že uvedené hodnoty kvantového výtěžku závisí na ozáření, když ozáření byla stejná u všech měření?
3. Není mi z metodiky jasné, jak vypadal model hierarchické ANOVy. Předpokládám, že nezávislé proměnné byly *země(areál)*, tedy po čtyřech zemích v domácím a invazním areálu. V metodice je však uvedeno, že z každé populace (*země*) bylo vysazeno celkem 16 rostlin, 4 od každé ze 4 mateřských rostlin. *Mateřská rostlina* by tedy mohla být faktorem vysvětlující část variability. Opravdu ale bylo měřeno 16 rostlin pro každou populaci? Graf na Obr. 6. naznačuje, že spíše méně. Dále, fotosyntetická měření probíhala několik dní, je ale zřejmé, že statistické vyhodnocení dat s tímto nepočítá, ačkoli je běžnou praxí, že rostliny citlivě reagují na aktuální počasí. Jak bylo měření rozvrženo, aby se eliminoval vliv *měřícího dne* (další potenciální parametr do statistického modelu)?
4. Z grafu na Obr. 13. je patrné, že výběry zdaleka nemají normální rozdělení a že rozptyly jsou velmi nevyrovnané. Byl parametrický test vhodnou metodou k porovnání populací?
5. Výsledky průduchové vodivosti a rychlosti fotosyntézy jsou diskutovány jako dvě navzájem nezávislé charakteristiky. Víme ovšem, že průduchová vodivost je často limitující pro rychlost fotosyntézy (snižuje dostupnost CO₂). Není tedy možné, že by nízké hodnoty rychlosti fotosyntézy u finské populace byly důsledkem nízké průduchové vodivosti? Nebo je tomu

naopak, čili protože mají rostliny nízkou rychlost fotosyntézy a nepotřebují takové zásobení CO₂, mají i menší průduchovou vodivost, aby omezily výdej vody? Jak by šlo experimentálně na tuto otázku odpovědět?

6. Nižší obsahy chlorofylů a karotenoidů u jižních populací v rámci původního a invazního areálu jsou interpretovány vyšší ozářeností. Obdobně lze ovšem vysvětlit i dále nediskutované rozdíly v poměru obsahu chlorofylů *a* a *b*. Jak a proč?
7. Na semináři profesora Neil Andersona, t.č. hostujícího na naší fakultě, jsem nabyl dojmu, že za invazivností kypřeje v Americe je introgresivní hybridizace. Je-li tomu tak, jak tato skutečnost může ovlivnit interpretaci výsledků?

Některé další nepřesnosti, nejasnosti a poznámky (není třeba diskutovat):

- Maximální rychlost fotosyntézy (míněna světlem saturovaná rychlost fotosyntetické asimilace CO₂) je v textu zmiňována pod mnoha dalšími označeními, což je místy zavádějící (míra fotosyntézy, asimilace CO₂, Photo, asimilace, maximální fotosyntéza...).
- Co jsou to heterofylní květy (p. 2)?
- Některé grafy/tabulky nejsou dostatečně samovysvětlující.
- Veličiny, jednotky: koncentrace CO₂ je v μmol na mol vzduchu (p. 7); šlo o relativní vlhkost vzduchu (p. 7); jednotkou SLA je v cm² g⁻¹ (Obr. 10).
- V Obr. 7–10 jsou vyneseny chybové úsečky, není zřejmé, co znázorňují, navíc nenaznačují skutečnou variabilitu mezi výběry (všechny jsou stejně dlouhé); mohly být použity „box & whiskers“ jako v Obr. 12–13. Jinde chybové úsečky chybí úplně (Obr. 5).
- Hladina významnosti je jednou 0.01 (p. 9), jindy zjevně 0.05. Pro *P* blízké hladině významnosti má smysl uvádět skutečnou hodnotu *P*, naopak zase u *P*=0.6 nemá smysl uvádět, že je zde nějaký trend (p. 15).
- V diskusi bych uvítal nějakou syntézu, než pouze odděleně diskutované jednotlivé výsledky.


Vypracoval: Tomáš Hájek

V Českých Budějovicích 19.5.2011

Náměty k diskusi během obhajoby F. Kašparové – komentář pro komisi:

Protože budu v době obhajoby v zahraničí, posílám komentář k některým fyziologičtějším tématům obhajoby:

Ad 2. Kvantový výtěžek asimilace CO_2 značí kolik kvant (molů) fotosynteticky aktivního záření je třeba pro asimilaci jedné molekuly (molu) CO_2 . Je nejvyšší při nízkých ozářeních (jak byl také měřen) a s přibývajícím ozářením klesá (světelná křivka má saturační charakter). Snížený maximální kvantový výtěžek je indikátorem stresu. Naměřené hodnoty kolem 0.07 (čili 14 kvant/ CO_2) však odpovídají zcela zdravým rostlinám. Snížený maximální kvantový výtěžek by se projevil snížením rychlosti fotosyntézy při všech ozářeních, tedy i zvýšením kompenzační ozáření (při které je respirace pokryta fotosyntézou a čistá výměna CO_2 je nulová).

Ad 5. Těžko z poskytnutých dat posoudit, zda průduchová vodivost limitovala rychlost fotosyntézy přes dostupnost CO_2 . Asi ještě ne, ale experimentálně to lze snadno dokázat pomocí použitého přístroje Li6400. Změřením závislosti rychlosti fotosyntézy na koncentraci CO_2 (přesněji intercelulární koncentraci CO_2 kterou přístroj vypočítá) potlačíme vliv odlišné průduchové vodivosti. Uchazečka taková měření prováděla při cvičení z fyziologie rostlin, tak by to pro ní nemělo být neznámé.

Ad 6. Poměr chlorofylů *a* a *b* vypovídá o poměru světlosběrných antén (kde je chlorofylu *b* přítomen) vůči reakčním centrům, do kterých přichází foton zachycený v anténách. U jižních populací, kde je průměrně vyšší ozáření, není potřeba (ani žádoucí) mít tolik světlosběrných antén, a proto mají listy relativně méně chlorofylu *b*, čili vyšší poměr chlorofylů *a* a *b*.

Tomáš Hájek
tel. 608-327-216

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Františky Kašparové
**"Ekofyziologické a morfologické rozdíly mezi domácími a invazními populacemi
Lythrum salicaria L."**

Předložená práce srovnává vybrané ekofyziologické, morfologické a růstové vlastnosti 4 invazních a 4 domácích populací. Mezi tyto vlastnosti patří rychlost asimilace CO₂, stomatální vodivost, obsah chlorofylu a karotenoidů, specifická listová plocha, výškový růst a začátek kvetení rostlin. Toto srovnání probíhalo pomocí zahradního experimentu, kdy byly rostliny z různých populací vystaveny stejným podmínkám prostředí. Práce má dosti ambiciózní cíle a to podchytit rozdíly mezi populacemi *Lythrum salicaria* v původním areálu rozšíření a invazními americkými populacemi a zjistit, jak se studované charakteristiky mění v závislosti na zeměpisné šířce výskytu. Ačkoli mám pochyby o tom, že počet populací a především počet mateřských rostlin reprezentujících jednu populaci (tj. 4 rostliny z každé populace) jsou dostatečné pro takto široce pojaté otázky, není sporu o tom, že práce přináší řadu zajímavých poznatků a vyžadovala značné pracovní úsilí studentky. K práci mám následující komentáře a otázky:

Úvod: -Nedomnívám se, že je vhodné doprostřed úvodu začlenit podrobnou popisnou charakteristiku druhu, tato z podstaty nečtivá pasáž patří do metodiky.

- Poněkud mi v úvodu (a potažmo i v diskuzi) chybí rozbor problematiky a hypotézy, proč by se studované charakteristiky měly v obou areálech lišit ("founder effect", jiné pozdější selekční tlaky v místě invaze....) a jaký je jejich vztah (alespoň potenciální) k invazivní schopnosti druhu, neměly by asi v úvodu chybět citace na recentní práce jako Kubátová et al. 2008 či Chun et al. 2009 zabývající se invazí druhu *L. salicaria* z pohledu moderních molekulárních metod.

Metodika: -Kapitola "Zpracování" je napsána poměrně laxně, bylo by dobré popsat podrobněji hierarchický design, bylo to bráno jako areál(země(mateřská kytka(kytka))) nebo jak?

- Nejsm si jist, jestli je dobré považovat "zem" jako náhodný efekt, sama autorka na straně 5 v kapitole "výběr rostlin" popisuje, jak vybírala země nenáhodně (tak aby pokryly celý gradient zeměpisných šířek).

Výsledky: Prezentace výsledků a související analýzy jsou mírně řečeno dosti zmatečné:

- Jaku hladinu významnosti (p) si autorka zvolila? na straně 9 se píše „Invazní a neinvazní populace.....průkazně nelišily (p>0.01)" a o kousek dál na straně 10 je považován rozdíl Španělsko x Finsko (p=0.029) za průkazný.

- Pakliže autorka provádí post-hoc testy mezi jednotlivými populacemi (strana 10, odstavec 1), měla by nejprve provést celkovou ANOVU (nestačí srovnání "invazní x neinvazní" jak je provedeno na straně 9 v posledním odstavci)

- U některých analýz není jasné, jak byly provedeny, je uvedeno pouze p bez d.f. či bližšího popisu analýzy (to platí třeba o analýze „invazní x neinvazní“ na straně 9, poslední odstavec)

- Někde výsledky analýz zcela chybí (strana 11, první odstavec; nebo strana 11 druhý odstavec..kde je ANOVA?.....provedla autorka pouze mnohonásobná porovnání ?; totéž strana 14, kapitola 5.3 první a druhá věta).

- Stejně tak není jasné, jak byla prováděna vícenásobná regrese (strana 11, poslední odstavec). Byla to regrese, kde každé měření bylo (chybně) považováno za nezávislé pozorování nebo byly tyto regrese součástí nějakého komplexnějšího designu GLM, kde byly

brány v potaz i další faktory jako příslušnost rostlin k populacím či k mateřské rostlině? Čím je dáno u obr. 6 že některé populace mají více měření (bodů) a některé podstatně méně?

- U obr 7 a 9 není jasné, co je na grafech znázorněno.....asi průměr ...ale co jsou úsečky 95% konfidenční intervaly, SD nebo SE?...proč jsou u všech populací stejně dlouhé?

- Tabulka 3: osobně preferuji standartní znázorňování mnohonásobných porovnání pomocí písmen přímo v grafech (tj. populace, které se neliší mají v grafu stejné písmeno), je to mnohem přehlednější.

- Strana 15 první odstavec kapitoly 5.4: zde by měl být odkaz na obrázek, kde se čtenář může o nesignifikantních trendech přesvědčit.

- Strana 15 poslední odstavec-chybí jakékoli testy k tomu, co autorka tvrdí.

- Citaci „Bastlová a Květ 2002“ (strana 17, odstavec) se mi nepodařilo nalézt v seznamu literatury.

- strana 17, druhý odstavec: „ V době měření rostliny z Finska téměř odkvétaly a naopak turecké neměly ani nasazená poupata“ toto myslím dobře vykresluje jedno z úskalí pokusu, o kterém by se měla autorka v diskuzi alespoň zmínit. Všechny populace byly vystaveny „stejným“ podmínkám na zahradě v Třeboni, avšak dá se předpokládat, že populace, které z těchto či podobných podmínek pochází, budou na tyto podmínky i lépe adaptovány.....tj. zřejmě se dojde k rozdílným výsledkům, kdyby pokus probíhal například ve Španělsku či Finsku. Podobný problém toto může hrát třeba i v interpretaci rozdílů mezi populacemi (např. strana 18, poslední odstavec) tj. je nízký obsah chlorofylu a karotenoidů vlastností populací z Tennessee a Turecka...nebo prostě je tady pro tyto populace už moc zima, málo světla atp....takže se jim ve venkovním pokusu v Třeboňské pánvi moc nevede?

Přes všechny uvedené výhrady si myslím že studentka odvedla velký kus práce na zajímavém tématu a zvládla řadu složitějších ekofyziologických metod. Navrhuji hodnotit stupněm velmi dobře.

V Třeboni 16.5.2011

Štěpán Janeček