

nejczer



OD POBUDZENIA DO ŚMIERCI

Jak chruściki reagują na kawę?

ALOKACJE BABKI

Zagęszczenie a inwestycja w organy generatywne i wegetatywne

DAĆ PLAMĘ?

Płeć i siedlisko a powierzchnia plam salamandry plamistej

**Uniwersytet Jagielloński
Instytut Nauk o Środowisku**

**Warsztaty metodyczne dla doktorantów:
Ekologia ewolucyjna**



**Ochotnica Górna
8-12 września 2010**

SPIS TREŚCI

I. PROWADZĄCY, RECENZENCI, UCZESTNICY.....	5
II. KIKSY.....	6
III. GRUPY BADAWCZE.....	7
IV. TEMATY ZAPROPONOWANE PRZEZ UCZESTNIKÓW.....	9
V. TEMATY WYBRANE I OPRACOWANE.....	10
VI. PROJEKTY, RAPORTY I RECENZJE.....	11
1. Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (<i>Plantago major</i>).....	11
1.1. Projekt.....	12
1.2. Raport - wersja pierwsza.....	14
1.3. Recenzje.....	19
1.4. Raport – wersja ostateczna.....	24
2. Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę?.....	33
2.1. Projekt.....	34
2.2. Raport - wersja pierwsza.....	35
2.3. Recenzje.....	40
2.4. Raport – wersja ostateczna.....	45
3. Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?.....	51
3.1. Projekt.....	52
3.2. Raport - wersja pierwsza.....	53
3.3. Recenzje.....	57
3.4. Raport – wersja ostateczna.....	61
4. Wpływ płci i typu siedliska na powierzchnię plam salamandry plamistej <i>Salamandra salamandra</i> (Linnaeus, 1758).....	65
4.1. Projekt.....	66
4.2. Raport - wersja pierwsza.....	67
4.3. Recenzje.....	74
4.4. Raport – wersja ostateczna.....	78

PROWADZĄCY:

Prof. dr hab. Mariusz Cichoń, Zespół Ekologii Populacyjnej INoŚ

RECENZENCI:

Prof. dr hab. Adam Łomnicki, Zespół Ekologii Populacyjnej INoŚ

Dr Magdalena Zagalska-Neubauer, Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa

UCZESTNICY:

Maciej Bonk, Zakład Entomologii IZ

Katarzyna Chrzęścik, Zespół Fizjologii Ewolucyjnej INoŚ

Emilia Grzędzicka, Zespół Ekologii Populacyjnej INoŚ

Joanna Kajzer, Zespół Ekologii Behawioralnej INoŚ

Filip Kapustka, Zespół Ewolucji Strategii Życiowych INoŚ

Michał Kuciel, Zakład Anatomii Porównawczej IZ

Magdalena Mikowska, Zespół Ekotoksykologii i Ekologii Stresu INoŚ

Justyna Morawska-Płoskonka, Zespół Ekotoksykologii i Ekologii Stresu INoŚ

Agata Pietrzyk, Zespół Ochrony Przyrody, Badań Łowieckich i Edukacji Środowiskowej INoŚ

Anna Wandycz, Zakład Anatomii Porównawczej IZ

Karolina Węcek, Zakład Anatomii Porównawczej IZ

Zdjęcie na okładce: Chruścik z rodziny Hydropsychidae (Fot. Michał Kuciel)

Projekt okładki: Joanna Kajzer, Maciej Bonk

Autorzy zdjęć: Maciej Bonk, Katarzyna Chrzęścik, Emilia Grzędzicka, Joanna Kajzer, Michał Kuciel, Katarzyna Miernik, Agata Pietrzyk

Opracowanie raportu: Joanna Kajzer

KIKSY

- Myślenie, że są to tylko chruściki jest aroganckie, to są aż chruściki. (KW)
- Obudź tygrysa w chruściku! (KCh po usłyszeniu informacji dot. użycia napoju energetyzującego „Tiger” w projekcie chruścikowym)
- Twój chruścik kupowałby Jacobs! (JK o zastosowaniu badań nad wpływem kofeiny na chruściki)
- Tytuł mi się podoba. (MC po zmianie tytułu projektu grupy świetlikowo-babkowej)
- I nawet mamy nazwę łacińską! (JM)
- W angielskim forma bezosobowa jest taka niemiecka. (MM)
- Nie, no nie będziemy tu kotejowieć. (MB po zasugerowaniu podwójnego wpisania i sprawdzenia danych przez KCh)
- Niektórzy nie muszą. (JK)
- Albo inaczej: niektórym już nic nie pomoże. (MM)
- Ale wiecie jaki jest problem z roślinami? One w większości są zielone. (JM)
- Dobrze dzieci, ja idę negocjować z butami. (JM)
- Ty się tymi swoimi babkami zajmij. (JK do FK)
- Nie widzisz że co 5 min obracam babkę? (FK)
- Na łące to co 5 min babkę wrywałem! (FK)
- Ale tylko mniejsze. (JK)
- Może upadniemy na kolana i włączymy „help”? (MM)
- W domu mam setkę, w instytucie mam setkę. (MC podczas dyskusji o szybkości przesyłania danych)
- To nie jest prawda. (FK)
- Można stwierdzić jakim dobrym izolatorem jest powietrze. (komentarz FK do różnicy temperatury w zależności od odległości od kominka)
- Słuchajcie! To jesteśmy co najmniej dwa poziomy wyżej niż gówno! (MM)
- Odparcie zarzutu: Na pewno ma pan rację. (MB)
- Acha! Tu jest jedno mądre zdanie. (MB o recenzji prof. Łomnickiego)
- Ta recenzja jest tak miła że aż się z nią nie zgadzam. (MB)
- O hipotetycznej rozmowie prof. MC z prof. AŁ:
 - Słuchaj Adam nie mają kontroli. (MB)
 - Wszystko pod kontrolą - nie mają kontroli. (JK)
- Zdanie tam kolejne po następnym. (MM przy omawianiu recenzji)
- Ja od początku byłam za stosunkiem. (KCh w kontekście stosunku powierzchni żółtej do czarnej na salamandrze)
- To możesz zrobić w utopijnych warunkach gdy jest słońce i 25 stopni. (JK)
- Nie bierzemy samic na serio. (JK)
- Jedyne, co możemy jeszcze zrobić, to stosunek. (MB)
- Każde czepianie mile widziane. (MB)
- Dzieciół czarny się odzywa, nie? (MB)
- Nie, to traktor. (JK)
- Samica salamandry zbiera cały ten pakiet plemników. (KCh)
- Bierze to do siebie. (JK)

PROWADZĄCY



Prof. dr hab. Mariusz Cichoń

GRUPY BADAWCZE



„CHRUŚCIKOWA”
Karolina, Ania, Michał



„BABKOWA”
Emilia, Justyna, Filip



„NIECIERPKOWO-SALAMANDROWA”
Asia, Magda, Agata, Kasia, Maciek

TEMATY ZAPROPONOWANE PRZEZ UCZESTNIKÓW

- 1) Wpływ kofeiny na aktywność koników polnych (KCh)
- 2) Wpływ oświetlenia na aktywność koników polnych (KCh)
- 3) Czy pająki wykazują osobnicze preferencje wysokości przebywania (KCh)
- 4) Zróżnicowanie siedliskowe przywrotnika pospolitego (MM)
- 5) Preferencja do koloru podłoża w zależności od ubarwienia koników polnych (MM)
- 6) Zmienność wielkości kożucha na mleku w zależności od cech krowy (MM)
- 7) Zróżnicowanie kielży w zależności od siły prądu wody (MB)
- 8) Czy ekspozycja stoku ma wpływ na tempo dojrzewania jętek (MB)
- 9) Czy wielkość ciała salamandry jest związana z odległością od potencjalnego miejsca rozrodu (MB)
- 10) Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z innymi gatunkami roślin o zapylacze (JK)
- 11) Czy istnieje dymorfizm płciowy w plamistości salamandry (JK)
- 12) Preferencje ślimaków do typów nawierzchni (JK)
- 13) Czy liczba kwiatostanów jest zależna od wielkości łodygi u świetlika (JM)
- 14) Zdolność koników pospolitych do radzenia sobie ze stresem (JM)
- 15) Wpływ temperatury otoczenia na tempo konsumpcji pokarmu u konika polnego (JM)
- 16) Czy odległość od zabudowań sprzyja bioróżnorodności na łące (EG)
- 17) Wpływ wieku lasu na bioróżnorodność mszaków i porostów (EG)
- 18) Czynniki wpływające na czas utrzymywania się kropli wody na liściu (EG)
- 19) Wpływ wypasu na różnorodność gatunkową roślin (AP)
- 20) Różnorodność malakofauny w zależności od wilgotności siedliska (AP)
- 21) Wpływ zanieczyszczeń antropogenicznych na skład gatunkowy fauny potoku (AP)
- 22) Wpływ alkoholu i kofeiny na zdolność budowania pajęczyn (AW)
- 23) Wpływ temperatury i światła na częstość cykania u świerszczy (AW)
- 24) Wpływ wielkości ofiary na jej atrakcyjność dla salamandry (KW)
- 25) Preferencje mrówek w stosunku do rodzaju substancji słodzących (KW)
- 26) Wpływ wysokości npm i wielkości zbiornika na wielkość kijanek kumaka (KW)
- 27) Czy mrówki są zdolne do detekcji stężenia cukru (AW)
- 28) Aktywność zwierząt wodnych w zależności od stymulatora (MK)
- 29) Wpływ obecności pastwisk i obór na obecność owadów kaprofagicznych (MK)
- 30) Czy ślimaki domkowe i bezdomkowe różnią się prędkością przemieszczania (FK)
- 31) Czy prędkość przemieszczania się ślimaków zależy od typu podłoża (FK)
- 32) Preferencje ślimaków w stosunku do piwa (FK)
- 33) Wytrzymałość nici tygrzyka i krzyżaka (JK)

TEMATY WYBRANE DO OPRACOWANIA

1. Wpływ kofeiny na aktywność koników polnych (KCh)
2. Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z innymi gatunkami roślin o zapylacze (JK)
3. Czy liczba kwiatostanów jest zależna od wielkości łodygi u świetlika (JM)
4. Aktywność zwierząt wodnych w zależności od stymulatora (MK)

TEMATY OSTATECZNIE OPRACOWANE

5. Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*).
6. Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę?
7. Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?
8. Wpływ płci i typu siedliska na powierzchnię płam salamandry plamistej *Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758).

PROJEKTY BADAWCZE, RAPORTY, RECENZJE

1. Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)

Justyna Morawska-Płoskonka¹, Emilia Grzędzicka², Filip Kapustka³

¹Zespół Ekotoksykologii i Ekologii Stresu, Instytut Nauk o Środowisku, UJ

²Zespół Ekologii Populacyjnej, Instytut Nauk o Środowisku, UJ

³Zespół Ewolucji Strategii Życiowych, Instytut Nauk o Środowisku, UJ



PROJEKT

Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)

Wstęp

Teoria optymalnej alokacji zasobów jest jedną z głównych koncepcji w teorii ewolucji. Tradycyjnie alokacja postrzegana jest jako proces podziału zasobów. Teoria zakłada, że rośliny alokują zasoby do organów, w których dadzą one największe korzyści w przełożeniu na dostosowanie. Oznacza to, że inwestują w części organizmu najistotniejsze do przeżycia i rozwoju w danym momencie. Zdolność roślin do pozyskiwania i alokowania zasobów jest warunkowana przez różne czynniki, np. charakter podłoża, zagęszczenie populacji oraz jest pozytywnie skorelowana z wielkością rośliny (Coelho et al. 2005).

W Andach sprawdzono rozkład biomasy w poszczególnych częściach roślin u kostrzewy *Festuca orthophylla* w zależności od ekspozycji stanowiska. W cieplejszych rejonach gór zanotowano wyższą inwestycję w liście; w chłodniejszych i bardziej narażonych na wpływ wiatru – w system korzeniowy (Patty et al. 2010).

W wielu badaniach wykazano, że rośliny zmieniają wzorce alokacji w wyniku zmieniającej się konkurencji. Gdy rośliny nie konkurują ze sobą o zasoby, ich biomasa jest alokowana głównie w biomasę części generatywnych. Jeżeli ich zagęszczenie wzrasta, większą część zasobów kierują na organy zwiększające ich konkurencyjność, np. liście i pędy (Weiner 2004). Rozkład biomasy jest warunkowany sąsiedztwem innych gatunków jak i zasobnością podłoża. *Cleistogenes squarrosa* oraz *Artemisia frigida* zasadzono na jednym poletku i pozbawiono liści, wprowadzono do podłoża azot, by przyspieszyć odbudowę organów. Poletko kontrolne zawierało obie rośliny, ale bez azotu. W wypadku braku biogenu, obserwowano konkurencję między gatunkami, która przyspieszyła odrastanie liści u *A. frigida*, a spowolniła u *C. squarrosa* (Gao et al. 2007).

Badania wykonane na wodnym makrolicie *Pistia stratioides* z wyżyny Pantanal w Brazylii wykazały, że istnieje trade-off pomiędzy wzrostem części zielonych (powstających w wyniku klonowania), a inwestycją w organy służące do reprodukcji. Biomasa i liczba rozgałęzień wzrastała także wraz z zagęszczeniem populacji (Coelho et al. 2005). Rodriguez i Brown porównywali wpływ herbicydu na dwóch polach z wiechliną *Poa annua* zasadzoną w różnym zagęszczeniu, a na jednej powierzchni w formie mieszanki z *Arabidopsis thaliana*. O ile herbicyd zredukował biomasę organów reprodukcyjnych, większe zagęszczenie roślin tego samego gatunku nie miało wpływu na alokację biomasy. Stwierdzono ten efekt u *P. annua* w sąsiedztwie drugiego gatunku (Rodriguez & Brown 1998).

Pomimo wielu prac dotyczących wpływu różnych czynników na potencjał rozmieszczenia zasobów aktualny stan wiedzy nie wyjaśnia jednoznacznie wpływu konkurencji wewnątrzgatunkowej na alokację zasobów u roślin.

Celem badań jest sprawdzenie czy istnieje interakcja pomiędzy zagęszczeniem babki większej *Plantago major* a alokacją w organy wegetatywne albo generatywne. Istotne jest sprawdzenie, czy wielkość skupiska roślin jest czynnikiem wpływającym na alokację zasobów.

Przewidujemy, że rośliny w większych skupiskach mają mniejsze organy wegetatywne (mierzone długością oraz biomasą). Jeżeli chodzi o pędy kwiatowe, mogą one być większe ze względu na alokację lub mniejsze ze względu na konkurencję z innymi roślinami.

Testowane będą następujące hipotezy:

Hipoteza 0: brak zależności między wielkościami organów, a zagęszczeniem.

Hipoteza 1: w większym zagęszczeniu oba rodzaje organów są mniejsze.

Hipoteza 2: przy większym zagęszczeniu organy wegetatywne (zielone) są mniejsze, a generatywne większe. Za hipotezą drugą przemawia fakt, że rośliny o wyższym zagęszczeniu prawdopodobnie mają wyższą zdolność do rozsiewania, skoro tworzą skupienia.

Materiały i metody

Badania zostaną przeprowadzone na łąkach w okolicy stacji terenowej UJ w Ochotnicy Górnej. Na obiekt badań wybrano pospolicie występującą babkę zwyczajną *Plantago major*, o znacznie większych liściach niż wiechlina (wspomniana w ww. badaniach Rodrigueza i Browna), co może mieć wpływ na alokację. Na czterech płatach łąk zostaną wybrane 3 pary standardowych poletek o zbliżonych warunkach fizycznych (m.in. ekspozycja stoku, wysokość n.p.m., nasłonecznienie, odległość od drogi i lasu). Poletka zostaną wyznaczone na transepcie biegnącym w poprzek stoku, przy pomocy okręgu o średnicy 75cm. W każdej parze poletek jedno będzie charakteryzowało się dużym skupieniem a drugie z mniejszym skupieniem babki zwyczajnej. Poprzez duże skupienie rozumiane jest zgrupowanie 5 i więcej osobników. Małe skupienie rozumiane jest jako zgromadzenie 1-4 osobników. Z każdego poletka zostaną zerwane wszystkie osobniki ze skupień do dalszych pomiarów. Przy pomocy wagi zostanie zmierzona biomasa liści i pędów z kwiatostanami (babka ma pojedyncze kłosa na każdym takim pędzie). W terenie zostaną zanotowane warunki położenia poletka oraz liczba wszystkich osobników w skupieniu.

Analiza statystyczna

Badana będzie interakcja biomasy organów wegetatywnych (liście) i generatywnych (pędy z kwiatostanami) z zagęszczeniem osobników. Zostanie zastosowany test analizy wariancji (ANOVA), w której rozróżnimy dane z dwóch różnych zagęszczeń (wysokie i niskie). Zbadamy czy biomasa organów jest pozytywnie skorelowana z ich długością oraz czy biomasa organów generatywnych są odwrotnie proporcjonalne do wegetatywnych.

Literatura

Coelho F.F., Deboni L., Lopes F.S. 2005. *Density-dependent reproductive and vegetative allocation in the aquatic plant Pistia stratiotes (Araeae)*. Rev.Biol.Trop. Vol.53(3-4): 369-376.

Gao Y.Z., Wang S.P., Han X.G., Chen Q.S., Zhou Z.Y., Patton B.D. 2007. *Defoliation, nitrogen, and competition: effects on plant growth and resource allocation of Cleistogenes squarrosa and Artemisia frigida*. J. Plant Nutr. Soil. Sci. 170: 115-122.

Huang Y., Zhao X., Zhang H., Japhet W., Zuo X., Luo Y., Huang G. 2009. *Allometric effects of Agriophyllum squarrosum in response to soil nutrients, water, and population density in the Horqiu Sandy Land of China*. J.Plant Biol. 52: 210-219.

Patty L., Halloy S., Hiltbrunner E., Korner C. 2010. *Biomass allocation in herbaceous plants under grazing impact in the high semi-arid Andes*. Flora, in press.

Rodriguez M.A., Brown V.K. 1998. *Plant competition and slug herbivory: effects on the yield and biomass allocation pattern of Poa annua L.* Acta Oecologica 19(1): 37-46.

Weiner J. 2004. *Allocation, plasticity and allometry in plants.* Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics. Vol. 6: 207-215.

RAPORT WERSJA PIERWSZA

Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)

Abstrakt

W wielu badaniach praktycznych i teoretycznych wykazano, że rośliny zmieniają wzorce alokacji w wyniku zmieniających się warunków fizyko-chemicznych, warunków siedliska, czy konkurencji między i wewnątrz gatunkowej lub presji drapieżników lub roślinożerców. Pomimo intensywnych badań nad alokacją zasobów, nie wszystkie czynniki na nią wpływające są dobrze poznane. W tej pracy skoncentrowano się na zjawisku konkurencji wewnątrzgatunkowej. Obiektem badań była babka zwyczajna (*Plantago major*) na czterech płatach łąk o różnym typie użytkowania i warunkach, zlokalizowanych na gruntach wsi Ochotnica Górna. Badania wykazały istnienie zmienności okazów pomiędzy poszczególnymi miejscami, nie zanotowano jednak jednoznacznej zależności alokacji w organy generatywne lub wegetatywne od zagęszczenia roślin.

Wstęp

Teoria optymalnej alokacji zasobów jest jedną z głównych koncepcji ekologii ewolucyjnej. Tradycyjnie alokacja postrzegana jest jako proces podziału zasobów. Definicja zakłada, że rośliny alokują zasoby do organów, w których dadzą one w ogólnym życiowym rozrachunku największe korzyści w przełożeniu na dostosowanie. Oznacza to, że inwestują w części organizmu najistotniejsze do przeżycia i rozwoju w danym momencie. Zdolność roślin do pozyskiwania i alokowania zasobów jest warunkowana przez różne czynniki, np. charakter podłoża, zagęszczenie populacji; jest również pozytywnie skorelowana z wielkością rośliny (Coelho et al. 2005). W Andach sprawdzono rozkład biomasy w poszczególnych częściach roślin u kostrzewy *Festuca orthophylla* w zależności od ekspozycji stanowiska. W cieplejszych rejonach gór zanotowano wyższą inwestycję w liście; w chłodniejszych i bardziej narażonych na wpływ wiatru – w system korzeniowy (Patty et al. 2010). Rozkład biomasy jest warunkowany sąsiedztwem innych gatunków jak i zasobnością podłoża. *Cleistogenes squarrosa* oraz *Artemisia frigida* zasadzono na jednym poletku i pozbawiono liści, wprowadzono do podłoża azot, by przyspieszyć odbudowę organów. Poletko kontrolne zawierało obie rośliny, ale bez azotu. W wypadku braku biogenu, obserwowano konkurencję między gatunkami, która przyspieszyła odrastanie liści u *A. frigida*, a spowolniła u *C. squarrosa* (Gao et al. 2007). Badania wykonane na wodnym makroficie *Pistia stratiotes* z wyżyny Pantanal w Brazylii wykazały, że istnieje trade-off pomiędzy wzrostem części zielonych (w tym wypadku powstających w wyniku klonowania), a inwestycją w organy służące do reprodukcji. Biomasa i liczba rozgałęzień wzrastała także wraz z zagęszczeniem populacji, gdyż glony silnie współzawodniczą o światło (Coelho et al. 2005). Rodriguez i Brown porównywali wpływ herbicydu na dwóch polach z wiechliną *Poa annua* zasadzoną w różnym zagęszczeniu, a na jednej powierzchni w formie mieszanki z *Arabidopsis thaliana*. O

ile herbicyd zredukował biomasę organów reprodukcyjnych, większe zagęszczenie roślin tego samego gatunku nie miało wpływu na alokację biomasy. Stwierdzono ten efekt u *P. annua* w sąsiedztwie drugiego gatunku (Rodriguez & Brown 1998).

Pomimo wielu prac dotyczących wpływu różnych czynników na potencjał rozmieszczenia zasobów, aktualny stan wiedzy nie wyjaśnia jednoznacznie wpływu konkurencji wewnątrzgatunkowej na alokację zasobów u roślin. Celem badań jest sprawdzenie czy istnieje interakcja pomiędzy zagęszczeniem babki większej *Plantago major*, a alokacją w organy wegetatywne albo generatywne. Istotne jest sprawdzenie, czy liczba okazów na jednostce powierzchni jest czynnikiem wpływającym na alokację zasobów u poszczególnych osobników.

Przewidywano, że rośliny w większych skupiskach mają mniejsze organy wegetatywne (mierzone biomasą). Jeżeli chodzi o pędy kwiatowe, mogą one być większe ze względu na alokację lub mniejsze ze względu na konkurencję z innymi roślinami. Testowane będą następujące hipotezy:

Hipoteza 0: brak zależności między wielkościami organów, a zagęszczeniem.

Hipoteza 1: w większym zagęszczeniu oba rodzaje organów są mniejsze.

Hipoteza 2: przy większym zagęszczeniu organy wegetatywne (zielone) są mniejsze, a generatywne większe. Za hipotezą drugą przemawia fakt, że rośliny o wyższym zagęszczeniu prawdopodobnie mają wyższą zdolność do rozsiewania, skoro tworzą skupienia.

Materiały i metody

Badania zostały przeprowadzone na terenach w okolicy stacji górskiej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Ochotnicy Górnej (Gorce). Na obiekt badań wybrano pospolicie występującą babkę zwyczajną *Plantago major*, o znacznie większych liściach niż wiechlina (wspomniana w ww. badaniach Rodrigueza i Browna), co może mieć wpływ na alokację. Roślina rośnie w różnych typach środowisk, rozmnaża się poprzez rozsiewanie nasion. Nie wytwarza kłacza, dzięki czemu można bez trudu odróżnić od siebie poszczególne osobniki. Wykazuje zarówno rozmieszczenie skupiskowe, rozproszone, jak i losowe. Materiał był pobierany na czterech stanowiskach (płatach łąki) różniących się użytkowaniem. Łąka 1 była użytkowana kośnie i jest położona na stromym stoku o ekspozycji południowej. We wrześniu roślinność nie przekraczała 10 cm wysokości, co świadczy, że była po pokosie. Płat 2 był łąką, na której prowadzono wypas bydła, zanotowano wiele miejsc ze zryta glebą bądź pokrytych odchodami; z roślinnością o średniej wysokości do 10 cm (we wrześniu). Położony był u podnóża stromego stoku o ekspozycji południowej. Łąka 3 była koszonym pasem przydrożnym położonym w odległości 0,5-2 m od drogi gruntowej; z roślinnością o średniej wysokości 15 cm (czyli po pokosie). Położona była na stoku o nieznacznym spadku w stronę południową. Płat 4 był nieużytkiem położonym blisko drogi oraz strumienia z roślinnością o nieregularnej wysokości; na stoku o niewielkim spadku ku południowi.

Na każdym płacie łąki wybrano po 6 standardowych poletek o zbliżonych warunkach fizycznych (m.in. wysokość n.p.m., nasłonecznienie, odległość od drogi i lasu). Poletka zostały wyznaczone na transekcie biegnącym równoległe do spadku stoku, przy pomocy standardowego okręgu o średnicy 75 cm. Poletka badawcze były wyznaczane pół-losowo. Zgrupowania babki wyszukiwane były przez obserwatorów z racji niejednorodnego rozmieszczenia roślin na łące. Babka zwyczajna preferuje miejsca o ubitej glebie. Po znalezieniu skupiska wyznaczano transekt. Zgrupowanie roślin lokowane było w środku okręgu. Z każdego poletka zrywano wszystkie osobniki ze skupień do dalszych pomiarów, każda roślina była odcinana nad powierzchnią gruntu (0,5 cm ponad podłożem). W wyjątkowych przypadkach nie pobierano roślin uszkodzonych przez zwierzęta, bądź

częściowo przykrytych ziemią, czy z nadgnitymi liśćmi, ponieważ pomiary biomasy byłyby obciążone znacznym błędem. Zaznaczano, z którego poletka nie pobrano roślin, by umożliwić realną ocenę zagęszczenia. Rośliny zabrudzone błotem zostały opłukane i wysuszone przed ważeniem. Przy pomocy wagi zanotowano świeżą biomasę liści i pędów z kwiatostanami (babka ma pojedyncze kłosa na każdym takim pędzie; jeden okaz może mieć więcej niż jeden kłos). Biomasa korzeni nie była uwzględniana ze względu na brak możliwości całkowitego ich oddzielenia od korzeni innych roślin, gleby, oraz ryzyko pozostania w niej ich fragmentów. Czas przeznaczony na wykonanie projektu uniemożliwił oznaczenie, w standardowy sposób, suchej biomasy (zakładającej suszenie w 50° przez dobę).

Statystyka

Do określenia różnic w średniej biomacie roślin oraz wadze dwóch typów organów, między poszczególnymi stanowiskami, zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Wykorzystanie tej analizy posłużyło także do porównania proporcji średniej biomasy organów generatywnych do wegetatywnych dla każdego płatu łąki. Zależność biomasy organów wegetatywnych (liście) i generatywnych (pędy z kwiatostanami) od zagęszczenia oceniono przy pomocy korelacji Spearmana. Zbadano czy biomasa organów generatywnych jest odwrotnie proporcjonalna do wegetatywnych. We wszystkich testach zastosowano poziom ufności na poziomie 0,05.

Wyniki

Wykazano, że wybrane płaty łąk istotnie różniły się pod względem biomasy roślin. Poletka wyznaczone w obrębie każdego miejsca poboru prób nie wykazały statystycznie istotnych różnic ($P > 0,05$). Na łące 1 liczba osobników na jednostce powierzchni wahała się pomiędzy 1 a 9; średnia biomasa roślin wynosiła 5,44-15,37 g; przy czym średnia biomasa organów wegetatywnych zawierała się w przedziale: 3,29-10,52 g, a generatywnych: 0,54-6,075 g. Na łące 2 liczba osobników na jednostce powierzchni wahała się pomiędzy 2 a 18; średnia biomasa roślin wynosiła 1,91-10,071 g; przy czym średnia biomasa organów wegetatywnych zawierała się w przedziale: 1,18-5,74 g, a generatywnych: 0,69-4,33 g. Na łące 3 liczba osobników na jednostce powierzchni wahała się pomiędzy 4 a 15; średnia biomasa roślin wynosiła 2,36-14,95 g; przy czym średnia biomasa organów wegetatywnych zawierała się w przedziale: 1,54-9,16 g, a generatywnych: 0,27-5,8 g. Łąkę 4 charakteryzowała liczba osobników na jednostce powierzchni wynosiła 3-11; średnia biomasa roślin wynosiła 8,67-33,6 g; przy czym średnia biomasa organów wegetatywnych zawierała się w przedziale: 5,6-24 g, a generatywnych: 3,07-12,22 g.

Jednokierunkowa analiza wariancji wykazała istotne różnice w średniej biomacie roślin ($F=7,67$; $df=3$, $P \leq 0,01$), oraz średniej biomacie organów wegetatywnych ($F=6,76$; $df=3$, $P \leq 0,01$) jak również generatywnych ($F=8,63$; $df=3$, $P \leq 0,001$) między czterema płatami łąk (Fig. 1). Nie wykazano istotnej różnicy w zmienności proporcji biomasy organów generatywnych do wegetatywnych dla poszczególnych płatów ($F=0,59$; $df=3$, $P > 0,05$). Współczynnik korelacji Spearmana pomiędzy liczbą osobników na jednostce powierzchni a średnią biomasą roślin dla każdego z czterech stanowisk okazał się nieistotny statystycznie ($P > 0,05$), podobnie jak korelacja liczby osobników na jednostce powierzchni ze średnią biomasą organów wegetatywnych ($P > 0,05$) oraz generatywnych ($P > 0,05$).

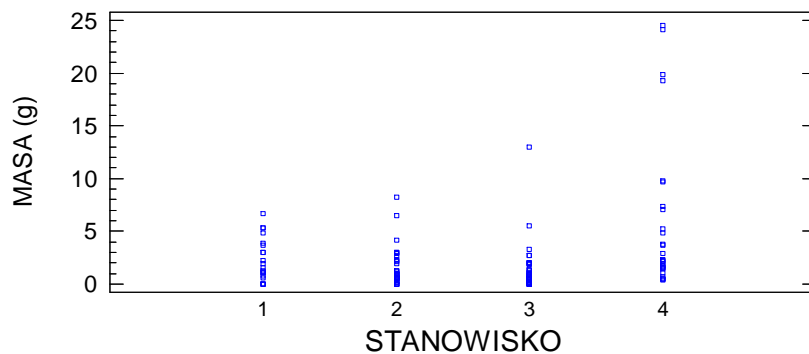


Fig. 1. Zależność średniej biomasy organów generatywnych od stanowiska.

Dla każdego stanowiska wykonano wykresy zależności biomasy części wegetatywnych oraz generatywnych zebranych okazów od zagęszczenie i wyznaczono linię trendu. We wszystkich przypadkach proste regresji mają ujemne współczynniki nachylenia.

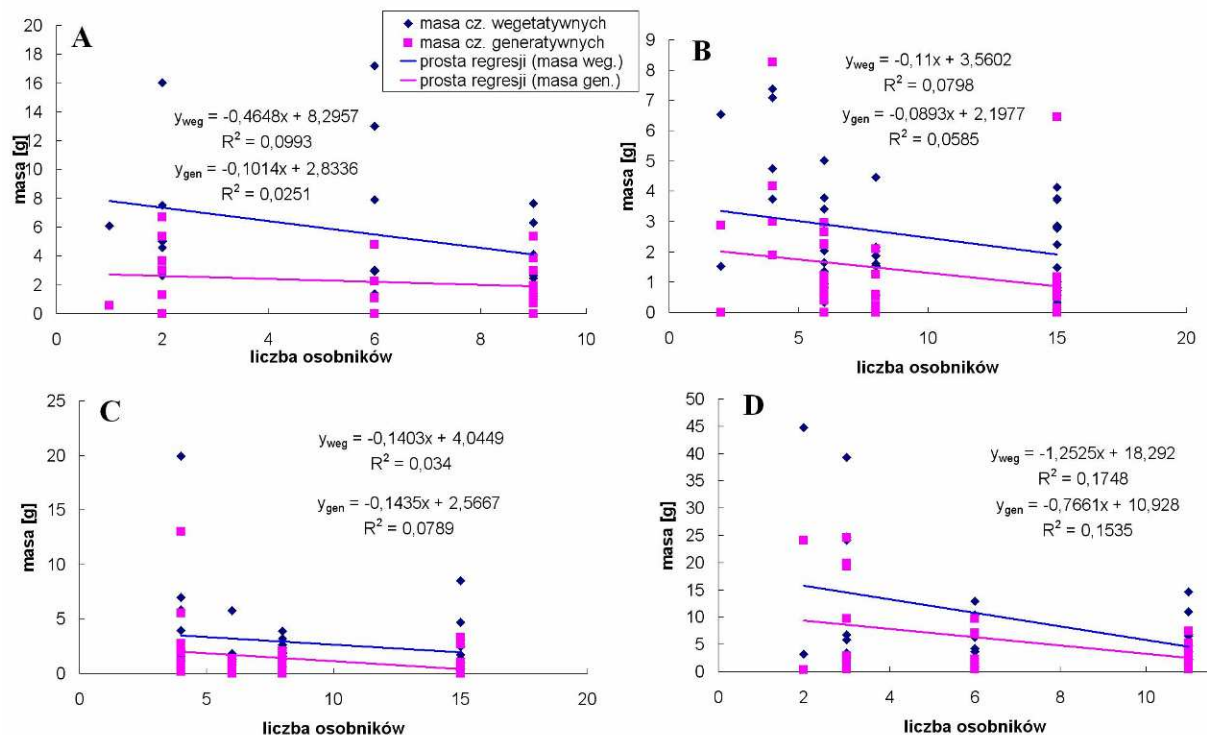


Fig. 2. Masa części wegetatywnych (niebieski) i generatywnych (różowy) od liczby osobników; Stanowisko (łąka): 1-A, 2-B, 3-C, 4-D.

Dyskusja

W przeprowadzonych badaniach nie udało się uniknąć problemów metodycznych. Podstawowym dylematem był brak możliwości standaryzacji układu eksperymentalnego. Rośliny pobierano bezpośrednio z terenu, w związku z czym, obserwatorzy nie mieli wpływu na wiek roślin i wiążącą się z tym wielkość organów wegetatywnych i generatywnych. Nie udało się także uniknąć wpływu zwierząt; zdarzały się rośliny, szczególnie na płacie 2,

których organy nie były zachowane w całości, zwłaszcza liście: uszkodzone przez zgryzanie, zagrzebywanie, rozczłonkowane lub zeschnięte, co wpływa na błąd w wynikach. Niemożność oznaczenia suchej masy (krótki czas trwania badania) wpłynęła zapewne znacznie na zróżnicowanie masy poszczególnych organów, w szczególności dotyczy to organów wegetatywnych, o największej zawartości wody. Trzeba przyznać, że zdarzały się także osobniki z kwiatostanami niemalże uschniętymi, a zatem lżejszymi od świeżych. Jak wspomniano okazów szczególnie zniszczonych nie brano pod uwagę w obliczeniach biomasy, jednak uwzględniano w ogólnej liczbie osobników na jednostkę powierzchni. Na analizy mogły mieć również wpływ niewielkie różnice w miejscu zerwania okazu znad ziemi, czy wydanie części nasion z kłosu generatywnego u osobników w zaawansowanym rozwoju. Zmienność morfologiczna roślin na poszczególnych łąkach nie wynika z cech gatunkowych, ale warunków środowiskowych: zawartości podłoża, sposobu użytkowania, czy wysokości oraz ekspozycji zbocza.

Przeprowadzone badania nie wykazały jednoznacznego wpływu zagęszczenia na alokację biomasy u babki zwyczajnej (*Plantago major*). Wykreślone proste regresji mają ujemne nachylenia co oznacza, że im więcej osobników na poletku tym mniejsza biomasa części wegetatywnych i generatywnych badanej rośliny (Fig. 2). Odmienne zależności pojawiły się na pierwszym płacie łąki, gdzie nachylenia krzywych regresji różnią się od siebie. Różnica we współczynnikach nachyleń może sugerować, że wraz ze wzrostem zagęszczenia zmienia się strategia alokowania zasobów pomiędzy częściami wegetatywnymi a generatywnymi roślin albo zależność inwestycji w części roślin wynika z czynników środowiskowych na płacie łąki. Analiza wariacji wykazała największą zmienność w wypadku organów generatywnych (Fig. 1). Najwyższa średnia biomas pędów kwiatowych występowała na czwartym płacie (nieużytek przy strumieniu) – prawdopodobnie ze względu na najniższą presję ze strony potencjalnego użytkownika.

Uzyskane wyniki wskazały na istnienie zmienności biomasy całej babki zwyczajnej pomiędzy stanowiskami, jak również rozmiarów jej organów wegetatywnych i generatywnych (ANOVA). Potwierdza to wyniki innych autorów, wskazujących na istnienie zależności między organami roślin, a czynnikami środowiskowymi (Patty et al. 2010; Gao et al. 2007). Interesujący jest fakt, że nie wykazano związku pomiędzy liczbą osobników na jednostce powierzchni, a wielkością roślin, w przeciwieństwie do wyników innych prac. Wiele badań wykazuje bowiem, że rośliny zmieniają wzorce alokacji będąc pod presją konkurencji. Gdy rośliny nie rywalizują ze sobą o zasoby, inwestują głównie w biomasę części generatywnych. Jeżeli ich zagęszczenie wzrasta, większą część zasobów kierują na organy pomagające w uzyskaniu przewagi nad sąsiadem, np. liście i pędy (Gao et al. 2007, Weiner 2004). Rezultaty wykonanych badań potwierdzają za to teorię allometrii, która oznacza nieliniową relację między wzrostem wegetatywnym, a organami reprodukcyjnymi. Różnice w inwestycji w oba te typy organów niekoniecznie odzwierciedlają rozmiary organów (Bonser & Aarssen 2009). W odniesieniu do istniejących już badań interesujący jest brak zróżnicowania w stosunku średniej biomasy organów generatywnych do wegetatywnych pomiędzy czterema łąkami (ANOVA). Teoria allometrii zakłada zachowanie *constans* w inwestycję zasobów w poszczególne organy, czyli zachowanie stałych proporcji (Niklas & Enquist 2002). Podsumowując, nie wykazano związku zagęszczenia z alokacją zasobów w jeden typ organów u babki zwyczajnej, ale zanotowano morfologiczną zmienność środowiskową roślin na różnych typach łąk oraz potwierdzono, że inwestycja w organy generatywne musi uwzględniać pewien kompromis w stosunku do organów wegetatywnych.

Literatura

Bonser S.P., Aarssen L.W. 2009. *Interpreting reproductive allometry: individual strategies of allocation explain size – dependent reproduction in plant populations*. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 11: 31-40.

Coelho F.F., Deboni L., Lopes F.S. 2005. *Density-dependent reproductive and vegetative allocation in the aquatic plant Pistia stratiotes (Araeae)*. *Rev.Biol.Trop.* Vol.53(3-4): 369-376.

Gao Y.Z., Wang S.P., Han X.G., Chen Q.S., Zhou Z.Y., Patton B.D. 2007. *Defoliation, nitrogen, and competition: effects on plant growth and resource allocation of Cleistogenes squarrosa and Artemisia frigida*. *J. Plant Nutr. Soil. Sci.* 170: 115-122.

Huang Y., Zhao X., Zhang H., Japhet W., Zuo X., Luo Y., Huang G. 2009. *Allometric effects of Agriophyllum squarrosum in response to soil nutrients, water, and population density in the Horqiu Sandy Land of China*. *J.Plant Biol.* 52: 210-219.

Niklas K.J., Enquist B.J. 2002. *Canonical rules for plant organ biomass partitioning and annual allocation*. *American Journal of Botany*. 89(5): 812-819.

Patty L., Halloy S., Hiltbrunner E., Korner C. 2010. *Biomass allocation in herbaceous plants under grazing impact in the high semi-arid Andes*. *Flora*, in press.

Rodriguez M.A., Brown V.K. 1998. *Plant competition and slug herbivory: effects on the yield and biomass allocation pattern of Poa annua L.* *Acta Oecologica* 19(1): 37-46.

Weiner J. 2004. *Allocation, plasticity and allometry in plants*. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. Vol. 6: 207-215.

RECENZJE

Adam Łomnicki

Recenzja raportu: „Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)”

Mam wątpliwości już do samego wstępu. Jest to erudycyjny popis wiedzy na temat alokacji zasobów u roślin w zależności od wielu różnych czynników zamiast skupienia się na tym, co zamierzamy robić. Z prostej obserwacji mniszka pospolitego wiadomo, że w otoczeniu innych roślin, tego samego i innych gatunków inwestuje on w liście, bo grozi mu zasłonięcie przez inne rośliny i sam te inne rośliny musi zasłaniać. A tam gdzie roślinność jest niszczone, wypasana i wydeptywana tworzy liście z głębokimi wcięciami i inwestuje w rozród, aby po zniszczeniu gdzie indziej zostawić potomstwo.

Z tego raportu przewija się niewiara autorów we własny pomysłunek i przekonanie, że w nauce trzeba się powoływać na innych. Trzeba, ale bez przesady. Raport dotyczy efektów konkurencji wewnątrzgatunkowej, ale aż się prosi, aby coś powiedzieć o innych gatunkach.

Bo dlaczego zasłonięcie jednej babki przez drugą babkę ma dawać inne efekty, aniżeli zasłonięcie przez inne rośliny? To trzeba wyjaśnić i przedyskutować. Podano bardzo dobrze 3 różne hipotezy, w tym jedną zerową, ale aż się prosi czwarta o numerze 3, że przy większym zagęszczeniu organy wegetatywne są większe. A argumentu za tym, że powinny być mniejsze nie rozumiem, co nie znaczy, że taką hipotezę też nie warto sprawdzić.

Bardzo ładnie opisane 4 różne powierzchnie badawcze, ale nie podano, dlaczego wybrano właśnie te powierzchnie. Bo tu chyba nie chodzi, aby były one reprezentatywne dla Gorców, tylko takie, które ułatwią testowanie przedstawionych hipotez. Jak ich właściwości mają się do tych hipotez. Pisane odrębnego ustępu o sposobach stosowania statystyki jest nieco naiwne. Chyba, że jest to jakaś niestandardowa wyrafinowana statystyka, a tu jest prosta i każdy czytelnik wiem, co to prosta analiza wariancji a co współczynnik korelacji Spearmana. Nawiasem mówiąc tam brakuje słowa współczynnik, bo słowa korelacja Spearmana są mało fachowe.

Z pierwszego akapitu wyników nic nie wynika dla testowania postawionych hipotez. Po prostu dla porządku spisano zakresy, w jakich mieści się biomasa całkowita oraz części wegetatywnych i generatywnych. A nawet gdyby coś wynikało, to powinno to być na wykresie lub w tabeli, bo wiele liczb w tekście jest nieczytelnych. Przedstawianie zakresów, zamiast średnich i odchyłeń standardowych dla całości też nie wiem, jaki ma sens. Podobnie nie wiem, po co wykres biomasy w na różnych powierzchniach, gdy nie wiemy jak te powierzchnie mają się do testowania przedstawionych hipotez. Druga rycina jest już bardziej sensowna, ale nie można się tam dowiedzieć, które z korelacji są istotne a które nie. A w ogóle to nie wiadomo ile osobników pomierzono i czy to są korelacje dla pojedynczych osobników czy dla średnich z poletek. Wygląda mi to na średnie z poletek, średnie z osobników dałyby bardziej istotne wyniki. Na tych wykresach widać jakiś wpływ zagęszczenia jest, a gdyby zrobić analizę kowariancji i jednorodność tych prostych regresji (ustęp 15.3 w nowym wydaniu „Wprowadzenia...”), to mogły by wyjść ciekawe wyniki. Tylko to by trzeba zrobić na osobnikach, a nie na średnich z poletek. Nie pojmuje też, dlaczego nie zrobiono danych o frakcji części wegetatywnych lub generatywnych od całości i sprawdzenia jak ta frakcja ma się do liczby i zagęszczenia wszystkich osobników, Tylko, że takie frakcje trzeba obliczać dla osobników a nie dla poletek. Przez to, że badania rozbito na powierzchnie obawiam się, że mogą być kłopoty z robieniem testów dla całości. Trzeba by zrobić jakiś układ hierarchiczny lub badać osobno dla każdej powierzchni. Czy przy planowaniu badań nie rozważano, jakie testy statystyczne będą używane? I czy rzeczywiście nie przyszło autorom do głowy, aby badać frakcje części na przykład generatywnych do całości u poszczególnych osobników?

W takich krótko trwających badaniach może nic nie wyjść i wszystkie testy mogą nam kazać utrzymać hipotezę zerową. Ale próbować należy wszystkimi możliwymi sposobami, a nie zajmować sprawami, z punktu widzenia testowania hipotezy, mało ważnymi. W dawnych czasach namawialiśmy młodych uczonych do czytania pracy Platta (1964) z *Science* pt. „Strong inference”. Ten artykuł mówi, że nauka to ani popisy erudycyjne, ani zbieranie jak największej ilości różnych wiadomości, ale dążenie do sprawdzenia konkretnej hipotezy i podporządkowanie temu całej swej działalności.

I na zakończenie. Maszynopisy pisze się z podwójną interlinią i z numerami stron. Symbole matematyczne na przykład P (prawdopodobieństwo błędu I rodzaju) pisze się kursywą. Piśmiennictwo pisze się też z podwójną interlinią, a kursywę daje się do nazw czasopism lub książek, zaś tytuły pracy pisze się zwykłym drukiem. Dla tomu (rocznika) nie pisze się „Vol.”, bo wiadomo, że pierwsza liczba po nazwie czasopisma to właśnie tom (rocznik). W nawiasie numer zeszytu pisze się tylko wówczas, gdy każdy zeszyt ma swą własną numerację stron, ale to zdarza się rzadko, numeracja jest zwykle dla całego tomu. To

takie zasady, które świadczą o profesjonalności. Powinni tego uczyć przy pisaniu pracy magisterskiej.

Adam Łomnicki
naturalnej wielkości profesor

Maciej Bonk

Recenzja raportu: „Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)”

Uwagi ogólne.

Praca pt. Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*). Podejmuje ciekawy problem alokacji zasobów roślin w zależności od zagęszczenia. Przeprowadzenie badań terenowych na babce zwyczajnej ma dużą wartość poznawczą. Autorzy przeprowadzili badania nad babką w różnych siedliskach. Manuskrypt zawiera wszystkie elementy standardowego maszynopisu pracy naukowej.

Brak istotnych statystycznie różnic w alokacji w organy wegetatywne i generatywne może świadczyć o zbyt małej próbie. Mimo to jasny wywód pracy oraz ciekawy temat zachęca do przeprowadzenia badań na większą skalę oraz na innych gatunkach. Jest to sugestia na przyszłość. Ciekawe jest również odniesienie do teorii allometrii.

Mimo ogólnie jasnego przekazu manuskryptu autorzy nie uniknęli kilku błędów. Nie jest dla mnie jasne stwierdzenie z wersu 193, który jest sprzeczny z wersem 198 nie wyjaśniając zatem przekonująco czy wyniki są zgodne z teorią alometrii czy nie.

Szczegółowe uwagi do manuskryptu, przedstawiono poniżej:

1. str. 2 wers 39. *Pistia* nie jest glonem.
2. str. 2 wers 59. Nie jest wyjaśnione dlaczego skupienia świadczą o większej zdolności do rozsiewania. Miarą większej zdolności do rozsiewania może równie dobrze być to na jakie odległości wędrują nasiona, a to powinno być negatywnie związane z tworzeniem skupień.
3. str. 2 wers 66. Czy większe liście rzeczywiście mogą mieć wpływ na alokację? Nawet jeśli tak jest naprawdę nie zostało wyjaśnione dlaczego.
4. str. 7 wers 198. Jest „alometrii”, powinno być „allomoetrii”.

Katarzyna Chrząścik

Recenzja raportu: „Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)”

Autorzy podjęli się bardzo ciekawego tematu optymalnej alokacji zasobów. Do swoich badań wybrali babkę zwyczajną *Plantago major*. Nie udało im się jednak wykazać lub wykluczyć wpływu zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne.

Całość raportu napisana jest mało przejrzyście. Wstęp jest zbyt rozbudowany, zawiera nieistotne dla projektu informacje. Autorzy skupiają się w nim na inwestycji w biomasę, natomiast niewiele piszą o alokacji w organy wegetatywne i generatywne w kontekście zagęszczenia. Cel pracy, adekwatny do tytułu, napisany został klarownie. Metoda badań nie jest przedstawiona w sposób klarowny. W części dotyczącej materiałów i metod oraz wyników zabrakło przedstawienia pewnych informacji w postaci tabel. Opis stanowisk w postaci tabeli byłby zdecydowanie czytelniejszy. Brakuje również przedstawionych w postaci rycin schematów eksperymentu, który ułatwiłby zrozumienie układu eksperymentalnego.

Autorzy nie stosują również spójnych nazw zarówno w samym tekście jak i rycinach (np. płyty łąk i stanowisko).

Autorzy napotkali podczas wykonywania projektu pewne trudności i ograniczenia, które mogły wpłynąć na otrzymane wyniki takie jak np. brak możliwości oznaczenia suchej masy, uszkodzenie części roślin przez zwierzęta, różny wiek poszczególnych osobników oraz brak możliwości określenia biomasy korzeni. Wszystkie te elementy zostały uwzględnione w dyskusji przez autorów. Wyniki należało jednak przedstawić w postaci tabeli oraz podać z odpowiednią dokładnością.

Joanna Kajzer

Recenzja raportu: „Wpływ zagęszczenia na strategię lokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)”

1. Wstęp

Może lepiej byłoby podać tylko hipotezy biologiczne.

Zamiast „trade-off” może kompromis ewolucyjny?

2. Materiał i metody

Akapit 1:

Niepotrzebnie powtórzona nazwa łacińska modelu badawczego, naprzemiennie używana nazwa stara i nowa bez wyjaśnienia (babka większa/zwyczajna).

„Rozmnaża się poprzez rozsiewanie nasion” – rozsiewanie to jeden z etapów rozmnażania, lepiej: rozprzestrzenia się.

Niezgodność czasu i trochę chaotycznie o stanowiskach.

Zamiast „standardowy” może lepiej „zestandardyzowany”?

Warto byłoby przedstawić schemat eksperymentu.

Brakuje parametrów i dokładności wagi.

50° C

3. Wyniki

Nie brzmi dobrze „na jednostce powierzchni (...) średnia biomasa roślin wynosiła 5,44-15,37 g”. Chodzi zapewne o różnice pomiędzy średnimi masami na poletkach w obrębie powierzchni, ale tu trzeba się trochę domyślać o co chodzi.

Chyba lepiej średnie wartości byłoby przedstawić w tabeli.

Na wykresach podałabym tylko wartości R^2

4. Dyskusja

Najpierw skupiłabym się na interpretacji wyników, a dopiero potem na problemach metodycznych.

„biomasy całej babki”, lepiej byłoby: łącznej biomasy organów wegetatywnych i generatywnych babki”.

Zamiast „teoria allometrii”, „zjawisko allometrii”

Tekst niepotrzebnie wyjustowany, zdarzają się literówki i błędy interpunkcyjne.

Magdalena Mikowska**Recenzja projektu: „Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)”**

- Przedstawiony mi do recenzji raport z badań dotyczących strategii alokacyjnych w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej porusza bardzo ważny, godny uwagi problem. Autorzy w czytelny sposób przedstawili wstęp teoretyczny do projektu, aczkolwiek chętnie przeczytałabym odrobinę szerzej o samych strategiach alokacyjnych.
- Autorzy napisali w wyczerpujący sposób raport z przeprowadzonych badań. Być może nawet, do niektórych zagadnień podeszli zbyt szeroko, co wprowadziło w tekście duże zamieszanie i odwróciło uwagę od głównego celu projektu.
- Metodykę badań dobrze byłoby przedstawić na schemacie, co ułatwiło by zrozumienie i powtórzenie badań przez innych naukowców. Pobór prób i jego uzasadnienie nie są dla mnie do końca jasne po przeczytaniu opisywanego raportu.
- Autorzy w swoim tekście zacytowali kilka bardzo interesujących, dobrze powiązanych z tematem prac. Tekst sformatowany jest w sposób schludny, uważam jednak, że wydzielenie oddzielnego paragrafu dotyczącego statystyki nie było konieczne.
- Kilka niedociągnięć metodologicznych autorom należy wybaczyć, ze względu na małą ilość czasu, którą dysponowali aby wykonać zadanie.

Agata Pietrzyk**Recenzja projektu „Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)”**

Autorzy projektu poruszyli ciekawy problem, choć jego przedstawienie we wstępie powinno być bardziej zwięzłe i konkretne. Wstęp jest za długi, moim zdaniem nie ma potrzeby przytaczania i tak szczegółowego opisywania przebiegu innych badań. W sposób jasny przedstawiono cel i hipotezy.

Metody przedstawione są w dość trudny w odbiorze sposób. Można byłoby bardziej przejrzysto opisać stanowiska/płaty łąki – np. w tabeli – w taki sposób, aby czytelnik z łatwością mógł porównywać stanowiska między sobą. Podobne zastrzeżenia można mieć wobec prezentacji wyników dotyczących biomasy roślin – w ciągłym tekście są one stosunkowo mało czytelne.

Metoda pobierania prób budzi pewne zastrzeżenia, Autorzy jednak wspominają o tym i uwzględniają to w „Dyskusji”.

Karolina Węcek

Recenzja projektu: Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)

Projekt dotyczy interesującego zagadnienia alokacji zasobów do organów w zależności od zagęszczenia roślin. Mocną stroną projektu jest wstęp, który stanowi bardzo dobre wprowadzenie do tematu i dobrze uzasadnienia celowości podjętych badań.

Mam jednak następujące uwagi:

- W projekcie polskie nazwy *Plantago major*, czyli babka zwyczajna i babka większa, są używane zamiennie. Może to wprowadzić czytelnika projektu w błąd, gdyż Autorzy nie podali w pracy informacji, że obie polskie nazwy tej rośliny są prawidłowe. Czytamy więc w abstrakcie, że obiektem badań jest babka zwyczajna, podczas gdy we wstępie pojawia się nazwa babka większa. Uważam, że należałoby się ograniczyć do stosowania jednej z nazw.
 - Nie wiadomo też, w jakiej odległości od siebie znajdowały się poletka w danym stanowisku. Wiadomo jedynie, że poletka były wybierane pół-losowo, ze względu na nierównomierne rozmieszczenie roślin na łące. Podanie odległości między poletkami mogłoby pomóc zilustrować rozmieszczenie badanej rośliny w danym stanowisku. Ponadto nie znane jest czy poletka z tego samego stanowiska były średnio podobnie oddalone od siebie jak poletka z innego stanowiska.
 - Podanie wyników w formie tabeli znacznie ułatwiłoby ich analizę.
 - Autorzy podają, że interesujący jest, zaobserwowany przez Nich, brak związku między liczbą roślin w jednostce powierzchni a ich wielkością, co przeczy wynikom innych prac. Nie jestem pewna, czy taki wynik jest powodem do zadowolenia, być może wielkość próby była niewystarczająca (jaka ona była, z pracy nie wynika to jednoznacznie).
 - Autorzy użyli określenia: standardowe poletko. Nie bardzo rozumiem co zostało przyjęte za standard.
 - Nie podobają mi się niektóre sformułowania, np. płaty łąk zlokalizowane na gruntach wsi (czy nie prościej byłoby napisać łąki we wsi), miejsca ze zrytą glebą bądź pokrytych odchodami.
 - Podając literaturę należałoby zastosować jedną konwencję pisowni (pisać lub nie *vol.*).
 - Nie podano numerów stron.
- Ogólnie projekt oceniam na dobry, wymaga niewielkich poprawek.

RAPORT WERSJA OSTATECZNA

Wpływ zagęszczenia na strategię alokacyjną w organy wegetatywne i generatywne u babki zwyczajnej (*Plantago major*)

Abstrakt

W wielu badaniach praktycznych i teoretycznych wykazano, że rośliny zmieniają wzorce alokacji w wyniku zmieniających się warunków fizyko-chemicznych, warunków siedliska, czy konkurencji między i wewnątrzgatunkowej, presji drapieżników lub roślinożerców. Pomimo intensywnych badań nad alokacją zasobów, nie wszystkie czynniki na nią wpływające są dobrze poznane. W tej pracy skoncentrowano się na zjawisku konkurencji wewnątrzgatunkowej. Obiektem badań była babka zwyczajna (*Plantago major*) na czterech

płatach łąk o różnym typie użytkowania i warunkach, zlokalizowanych na gruntach wsi Ochotnica Górna. Badania wykazały zmienność osobników pomiędzy poszczególnymi stanowiskami badawczymi, nie zanotowano jednak jednoznacznej zależności alokacji w organy generatywne lub wegetatywne od zagęszczenia roślin.

Wstęp

Teoria optymalnej alokacji zasobów jest jedną z głównych koncepcji ekologii ewolucyjnej. Tradycyjnie alokacja postrzegana jest jako proces podziału zasobów. Definicja zakłada, że rośliny alokują zasoby do organów, w których dadzą one w ogólnym życiowym rozrachunku największe korzyści w przełożeniu na dostosowanie. Oznacza to, że inwestują w części organizmu najistotniejsze do przeżycia i rozwoju w danym momencie. Zdolność roślin do pozyskiwania i alokowania zasobów jest warunkowana przez różne czynniki, np. charakter podłoża, zagęszczenie populacji; jest również pozytywnie skorelowana z wielkością rośliny (Coelho et al. 2005). W wielu badaniach praktycznych i teoretycznych wykazano, że rośliny zmieniają wzorce alokacji w wyniku zmieniających się warunków fizyko-chemicznych (e.g. Gao et al. 2007, Rodriguez & Brown 1998), warunków siedliska (e.g. Patty et al. 2010), konkurencji między- (e.g. Antonovics, et al. 1980, Gao et al. 2007) i wewnątrz gatunkowej (e.g. Weiner 2004, Coelho et al. 2005) lub presji szkodników lub roślinożerców (e.g. Antonovics, et al. 1980).

Pomimo wielu prac dotyczących wpływu różnych czynników na potencjał rozmieszczenia zasobów, aktualny stan wiedzy nie wyjaśnia jednoznacznie wpływu konkurencji wewnątrzgatunkowej na alokację zasobów u roślin. Celem badań jest sprawdzenie czy istnieje interakcja pomiędzy zagęszczeniem babki zwyczajnej *Plantago major*, a alokacją w organy wegetatywne albo generatywne. Istotne jest sprawdzenie, czy liczba okazów na jednostce powierzchni jest czynnikiem wpływającym na alokację zasobów u poszczególnych osobników.

Przewidywano, że rośliny w większych skupiskach mają mniejsze organy wegetatywne (mierzone biomasą). Jeżeli chodzi o pędy kwiatowe, mogą one być większe ze względu na alokację lub mniejsze ze względu na konkurencję z innymi roślinami. Testowane będą następujące hipotezy:

Hipoteza 0: brak zależności między wielkościami organów, a zagęszczeniem.

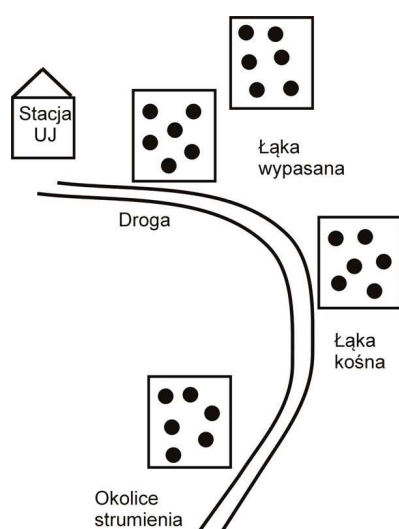
Hipoteza 1: w większym zagęszczeniu oba rodzaje organów są mniejsze.

Hipoteza 2: przy większym zagęszczeniu organy wegetatywne (zielone) są mniejsze, a generatywne większe.

Hipoteza 3: przy większym zagęszczeniu organy wegetatywne są większe.

Materiały i metody

Badania zostały przeprowadzone na terenach w okolicy stacji górskiej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Ochotnicy Górnej (Gorce). Na obiekt badań wybrano pospolicie występującą babkę zwyczajną *Plantago major*, o znacznie większych liściach niż wiechlina (wspomniana w ww. badaniach Rodrigueza i Browna). Roślina rośnie w różnych typach środowisk, rozprzestrzenia się poprzez rozsiewanie nasion. Nie wytwarza kłaczka, dzięki czemu można bez trudu odróżnić od siebie poszczególne osobniki. Wykazuje zarówno rozmieszczenie skupiskowe, rozproszone, jak i losowe. Materiał był pobierany na czterech stanowiskach (płatach łąki) różniących się użytkowaniem. Ich charakterystykę zawiera Tab.1.



Ryc. 1. Schemat położenia (płątów łąki), gdzie pobierano materiał do analizy, w okolicach stacji UJ

Wyznaczenie różnych stanowisk poboru próbek miało na celu sprawdzenie czy zagęszczenie babki zwyczajnej różni się w zależności od formy użytkowania.

Tab. 1. Opis stanowisk poboru próbek.

STANOWISKO	OPIS
1	Łąka użytkowana kośnie i jest położona na stromym stoku o ekspozycji południowej; roślinność nie przekraczała 10 cm wysokości (po pokosie), położona u podnóża stromego stoku o ekspozycji południowej
2	Łąka, na której prowadzono wypas bydła, wiele miejsc ze zryta glebą bądź pokrytych odchodami; z roślinnością o średniej wysokości do 10 cm; położona u podnóża stromego stoku o ekspozycji południowej
3	Koszonym pas przydrożny położony w odległości 0,5-2 m od drogi gruntowej; z roślinnością o średniej wysokości 15 cm (po pokosie); położona na stoku o nieznacznym spadku w stronę południową.
4	Nieużytek położony blisko drogi oraz strumienia, z roślinnością o nieregularnej wysokości; położony na stoku o niewielkim spadku ku południowi.

Na każdym płącie łąki wybrano po 6 poletek o zbliżonych warunkach fizycznych (m.in. wysokość n.p.m., nasłonecznienie, odległość od drogi i lasu). Poletka zostały wyznaczone równoległe do spadku stoku, przy pomocy standardowego okręgu o średnicy 75 cm, w sposób pół-losowy. Zgrupowania babki musiały być wyszukiwane przez obserwatorów z racji niejednolitego rozmieszczenia roślin na łące. Babka zwyczajna preferuje miejsca o ubitej glebie. Po zauważeniu skupiska babki, wyznaczano poletko. Zgrupowanie roślin lokowane było w środku okręgu. Z każdego poletka zrywano wszystkie osobniki ze skupień do dalszych pomiarów, każda roślina była odcinana nad powierzchnią gruntu (0,5 cm ponad podłożem). W wyjątkowych wypadkach nie pobierano roślin uszkodzonych przez zwierzęta, bądź częściowo przykrytych ziemią, czy z nadgnitymi liśćmi, ponieważ pomiary biomasy byłyby obciążone znacznym błędem. Zaznaczano, z którego poletka nie pobrano roślin, by umożliwić realną ocenę zagęszczenia. Rośliny zabrudzone błotem zostały opłukane i wysuszone przed ważeniem. Przy pomocy wagi tomopol s050 o dokładności 0,005 g; zanotowano świeżą biomasę liści i pędów z kwiatostanami (babka ma pojedyncze kłosa na każdym takim pędzie; jeden okaz może mieć więcej niż jeden kłos). Biomasa korzeni nie była uwzględniana ze względu na brak możliwości całkowitego ich oddzielenia od korzeni innych roślin, gleby, oraz ryzyko pozostania w niej ich fragmentów. Czas przeznaczony na

wykonanie projektu uniemożliwił oznaczenie, w standardowy sposób, suchej biomasy (zakładającej suszenie w 50°C przez dobę).

Do określenia różnic w średniej biomase roślin oraz wadze dwóch typów organów, między poszczególnymi stanowiskami, zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Wykorzystanie tej analizy posłużyło także do porównania proporcji średniej biomasy organów generatywnych do wegetatywnych dla każdego płatku łąki. Zależność biomasy organów wegetatywnych (liście) i generatywnych (pędy z kwiatostanami) od zagęszczenia oceniono przy pomocy współczynnika korelacji Spearmana. Zbadano czy biomasa organów generatywnych jest odwrotnie proporcjonalna do wegetatywnych. Do sprawdzenia zależności biomasy organów generatywnych do całości rośliny, policzono kowariancję dla każdej łąki; stopnie swobody to liczba zebranych osobników ze wszystkich sześciu poletek minus 1. We wszystkich testach zastosowano przedział ufności 0,05.

Wyniki

Wykazano, że wybrane płatki łąk istotnie różniły się pod względem biomasy roślin. Poletka wyznaczone w obrębie każdego miejsca poboru prób nie wykazały statystycznie istotnych różnic ($P > 0,05$). Wyznaczono średnie biomasy roślin na każdym z sześciu poletek w obrębie czterech płatów łąk (Tab. 2).

Tab. 2. Zbiorcze zestawienie średniej biomasy oraz liczby osobników na każdym poletku.

	łąka 1		łąka 2		łąka 3		łąka 4	
Poletko	biomasa	liczba os.	biomasa	liczba os.	biomasa	liczba os.	biomasa	liczba os.
1	9,116	6	1,914	6	3,419	8	17,295	3
2	6,62	1	10,071	4	2,572	4	8,675	11
3	5,444	9	2,658	9	3,199	15	18,925	3
4	7,902	2	3,257	18	2,559	6	36,23	2
5	15,377	2	4,556	9	14,955	4	33,597	3
6	6,184	2	5,467	2	2,361	8	10,222	6
średnia	8,4405		4,653833		4,844167		20,824	
S.E.	1,486005		1,203574		2,029101		4,748877	
S.D.	3,639954		2,948141		4,970261		11,63233	
wariancja	13,24927		8,691537		24,70349		135,311	

Z wytypowanych stanowisk zebrano łącznie 136 osobników.

Jednokierunkowa analiza wariancji wykazała istotne różnice w średniej biomase roślin ($F=7,67$; $df=3$, $P \leq 0,01$), oraz średniej biomase organów wegetatywnych ($F=6,76$; $df=3$, $P \leq 0,01$) jak również generatywnych ($F=8,63$; $df=3$, $P \leq 0,001$) między czterema płatami łąk (Fig. 1). Nie wykazano istotnej różnicy w zmienności proporcji biomasy organów generatywnych do wegetatywnych dla poszczególnych płatów ($F=0,59$; $df=3$, $P > 0,05$). Współczynnik korelacji Spearmana pomiędzy liczbą osobników na jednostce powierzchni a średnią biomasą roślin dla każdego z czterech stanowisk okazał się nieistotny statystycznie ($P > 0,05$), podobnie jak korelacja liczby osobników na jednostce powierzchni ze średnią biomasą organów wegetatywnych ($P > 0,05$) oraz generatywnych ($P > 0,05$). Wykazano, że największa średnia biomasa organów generatywnych była na łące 4 (Fig. 1).

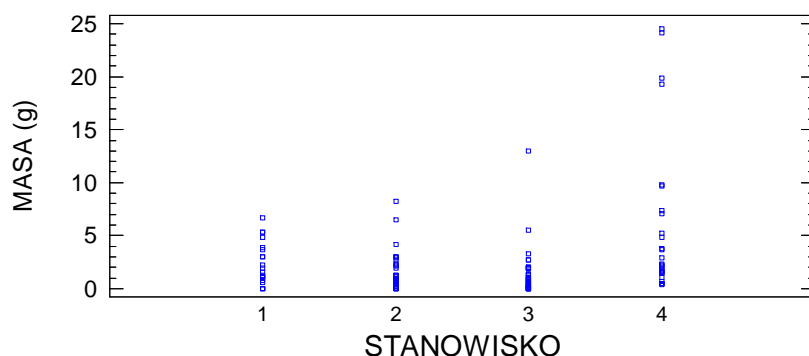


Fig. 1. Zależność średniej biomasy organów generatywnych od stanowiska.

Powyższe wyniki potwierdza analiza kowariancji, w której podzielono iloczyn biomasy organów generatywnych i biomasy całych roślin dla wszystkich zebranych z danej łąki przez stopnie swobody. Tabela 2. zawiera także statystykę opisową odnoszącą się do stosunków biomasy organów generatywnych do całości biomasy roślin ze wszystkich poletek osobno dla każdego płata łąki.

Tab. 3. Statystyka opisowa ilorazu biomasy organów generatywnych do całości oraz kowariancje dla iloczynu biomasy organów generatywnych x biomasa roślin dla każdej łąki.

	łąka 1	łąka 2	łąka 3	łąka 4
średnia	0,284712	0,307323	0,247977	0,331699
S.E.	0,037594	0,029571	0,026957	0,024794
S.D.	0,176331	0,189344	0,176772	0,1312
wariancja	0,031093	0,035851	0,031248	0,017213
Minimum	0	0	0	0,086789
Maximum	0,511461	0,706065	0,555091	0,618289
Suma	6,263665	12,60023	10,66303	9,287586
N	22	41	43	28
kow.	27,2	10,48	16,05	224,37

Dla każdego stanowiska wykonano wykresy zależności biomasy części wegetatywnych oraz generatywnych zebranych okazów od zagęszczenie i wyznaczono linię trendu (Fig. 2). We wszystkich wypadkach proste regresji mają ujemne współczynniki nachylenia.

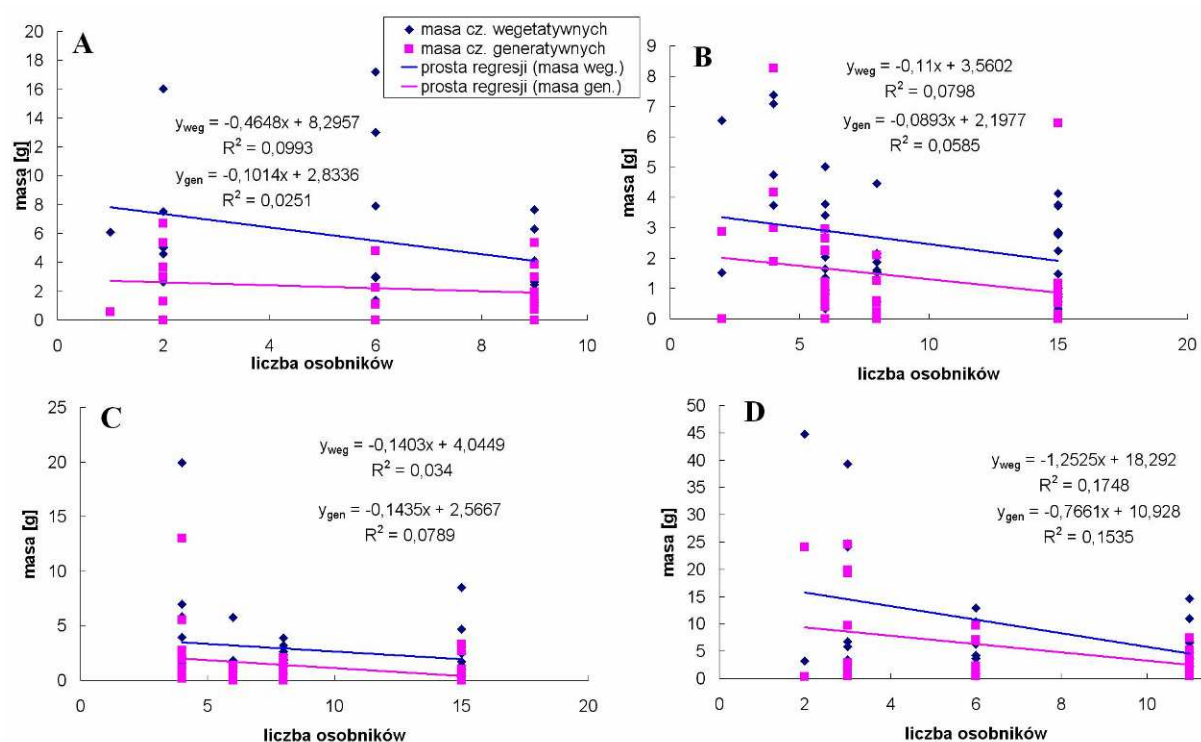


Fig. 2. Masa części vegetatywnych (niebieski) i generatywnych (różowy) od liczby osobników; Stanowisko (łąka): 1-A, 2-B, 3-C, 4-D.

Dyskusja

Przeprowadzone badania nie wykazały jednoznacznego wpływu zagęszczenia na alokację biomasy u babki zwyczajnej (*Plantago major*). Wykreślone proste regresji mają ujemne nachylenia co oznacza, że im więcej osobników na poletku tym mniejsza biomasa części vegetatywnych i generatywnych badanej rośliny (Fig. 2). Odmienne zależności pojawiły się na pierwszym płacie łąki, gdzie nachylenia krzywych regresji różnią się od siebie. Różnica we współczynnikach nachyleń może sugerować, że wraz ze wzrostem zagęszczenia zmienia się strategia alokowania zasobów pomiędzy częściami vegetatywnymi a generatywnymi roślin albo zależność inwestycji w części roślin wynika z czynników środowiskowych na płacie łąki. Analiza wariancji wykazała największą zmienność w wypadku organów generatywnych (Fig. 1). Najwyższa średnia biomasa pędów kwiatowych występowała na czwartym płacie (nieużytek przy strumieniu) – prawdopodobnie ze względu na najniższą presję ze strony potencjalnego użytkownika.

Uzyskane wyniki wskazały na istnienie zmienności biomasy całej babki zwyczajnej pomiędzy stanowiskami, jak również rozmiarów jej organów vegetatywnych i generatywnych (ANOVA). Potwierdza to wyniki innych autorów, wskazujących na istnienie zależności między organami roślin, a czynnikami środowiskowymi (Patty et al. 2010; Gao et al. 2007). Interesujący jest fakt, że nie wykazano związku pomiędzy liczbą osobników na jednostce powierzchni, a wielkością roślin, w przeciwieństwie do wyników innych prac. Wiele badań wykazuje bowiem, że rośliny zmieniają wzorce alokacji będąc pod presją konkurencji. Gdy rośliny nie rywalizują ze sobą o zasoby, inwestują głównie w biomasa części generatywnych. Jeżeli ich zagęszczenie wzrasta, większą część zasobów kierują na organy pomagające w uzyskaniu przewagi nad sąsiadem, np. liście i pędy (Gao et al. 2007, Weiner 2004). Rezultaty wykonanych badań potwierdzają za to teorię allometrii, która oznacza nieliniową relację między wzrostem vegetatywnym, a organami reprodukcyjnymi.

Różnice w inwestycji w oba te typy organów niekoniecznie odzwierciedlają rozmiary organów (Bonser & Aarssen 2009). W odniesieniu do istniejących już badań interesujący jest brak zróżnicowania w stosunku średniej biomasy organów generatywnych do wegetatywnych pomiędzy czterema łąkami (ANOVA). Teoria allometrii zakłada zachowanie *constans* w inwestycję zasobów w poszczególne organy, czyli zachowanie stałych proporcji (Niklas & Enquist 2002).

W analizie kowariancji, najwyższą zmienność w iloczynie biomasy organów generatywnych do całości rośliny wykazano na płacie 4, gdzie liczba osobników ze wszystkich sześciu poletek wynosi 28 (Tab.3). Znacznie mniejszą kowariancją charakteryzuje się płat 1, na którym wykazano 22 osobniki. Kowariancje dla łąk 2 i 3, jak również liczba okazów babki są porównywalne. Może się to wiązać ze stopniem ingerencji w łąki i sposobem ich użytkowania – obie te powierzchnie były koszone. Płat 1 był wypasany, natomiast łąka 4 – to nieużytek, dający tym samym szansę na największą inwestycję w organy generatywne.

W przeprowadzonych badaniach nie udało się uniknąć problemów metodycznych. Podstawowym dylematem był brak możliwości standaryzacji układu eksperymentalnego. Rośliny pobierano bezpośrednio z terenu, w związku z czym, obserwatorzy nie mieli wpływu na wiek roślin i wiążącą się z tym wielkość organów wegetatywnych i generatywnych. Nie udało się także uniknąć wpływu zwierząt; zdarzały się rośliny, szczególnie na płacie 2, których organy nie były zachowane w całości, zwłaszcza liście: uszkodzone przez zgryzanie, zagrzebywanie, rozczłonkowane lub zeschnięte, co wpływa na błąd w wynikach. Niemożność oznaczenia suchej masy (krótki czas trwania badania) wpłynęła zapewne znacznie na zróżnicowanie masy poszczególnych organów, w szczególności dotyczy to organów wegetatywnych, o największej zawartości wody. Trzeba przyznać, że zdarzały się także osobniki z kwiatostanami niemalże uschniętymi, a zatem lżejszymi od świeżych. Jak wspomniano okazów szczególnie zniszczonych nie brano pod uwagę w obliczeniach biomasy, jednak uwzględniano w ogólnej liczbie osobników na jednostkę powierzchni. Na analizy mogły mieć również wpływ niewielkie różnice w miejscu zerwania okazu znad ziemi, czy wydanie części nasion z kłosu generatywnego u osobników w zaawansowanym rozwoju. Zmienność morfologiczna roślin na poszczególnych łąkach nie wynika z cech gatunkowych, ale warunków środowiskowych: zawartości podłoża, sposobu użytkowania, czy wysokości oraz ekspozycji zbocza.

Przeprowadzone badania nie wykazały jednoznacznego wpływu zagęszczenia na alokację biomasy u babki zwyczajnej (*Plantago major*). Wykreślone proste regresji mają ujemne nachylenia co oznacza, że im więcej osobników na poletku tym mniejsza biomasa części wegetatywnych i generatywnych badanej rośliny (Fig. 2). Odmienne zależności pojawiły się na pierwszym płacie łąki, gdzie nachylenia krzywych regresji różnią się od siebie. Różnica we współczynnikach nachyleń może sugerować, że wraz ze wzrostem zagęszczenia zmienia się strategia alokowania zasobów pomiędzy częściami wegetatywnymi a generatywnymi roślin albo zależność inwestycji w części roślin wynika z czynników środowiskowych na płacie łąki. Analiza wariacji wykazała największą zmienność w wypadku organów generatywnych (Fig. 1). Najwyższa średnia biomas pędów kwiatowych występowała na czwartym płacie (nieużytek przy strumieniu) – prawdopodobnie ze względu na najniższą presję ze strony potencjalnego użytkownika.

Uzyskane wyniki wskazały na istnienie zmienności biomasy całej babki zwyczajnej pomiędzy stanowiskami, jak również rozmiarów jej organów wegetatywnych i generatywnych (ANOVA). Potwierdza to wyniki innych autorów, wskazujących na istnienie zależności między organami roślin, a czynnikami środowiskowymi (Patty et al. 2010; Gao et

al. 2007). Interesujący jest fakt, że nie wykazano związku pomiędzy liczbą osobników na jednostce powierzchni, a wielkością roślin, w przeciwieństwie do wyników innych prac. Wiele badań wykazuje bowiem, że rośliny zmieniają wzorce alokacji będąc pod presją konkurencji. Gdy rośliny nie rywalizują ze sobą o zasoby, inwestują głównie w biomasę części generatywnych. Jeżeli ich zagęszczenie wzrasta, większą część zasobów kierują na organy pomagające w uzyskaniu przewagi nad sąsiadem, np. liście i pędy (Gao et al. 2007, Weiner 2004). Rezultaty wykonanych badań potwierdzają za to teorię allometrii, która oznacza nieliniową relację między wzrostem wegetatywnym, a organami reprodukcyjnymi. Różnice w inwestycji w oba te typy organów niekoniecznie odzwierciedlają rozmiary organów (Bonser & Aarssen 2009). W odniesieniu do istniejących już badań interesujący jest brak zróżnicowania w stosunku średniej biomasy organów generatywnych do wegetatywnych pomiędzy czterema łąkami (ANOVA). Teoria allometrii zakłada zachowanie *constans* w inwestycję zasobów w poszczególne organy, czyli zachowanie stałych proporcji (Niklas & Enquist 2002). Podsumowując, nie wykazano związku zagęszczenia z alokacją zasobów w jeden typ organów u babki zwyczajnej, ale zanotowano morfologiczną zmienność środowiskową roślin na różnych typach łąk oraz potwierdzono, że inwestycja w organy generatywne musi uwzględniać pewien kompromis w stosunku do organów wegetatywnych oraz że jest zależna od sposobu użytkowania łąki. Hipoteza 1 mówiąca o zmniejszaniu się organów wegetatywnych i generatywnych pod wpływem zagęszczenia została potwierdzona.

Literatura

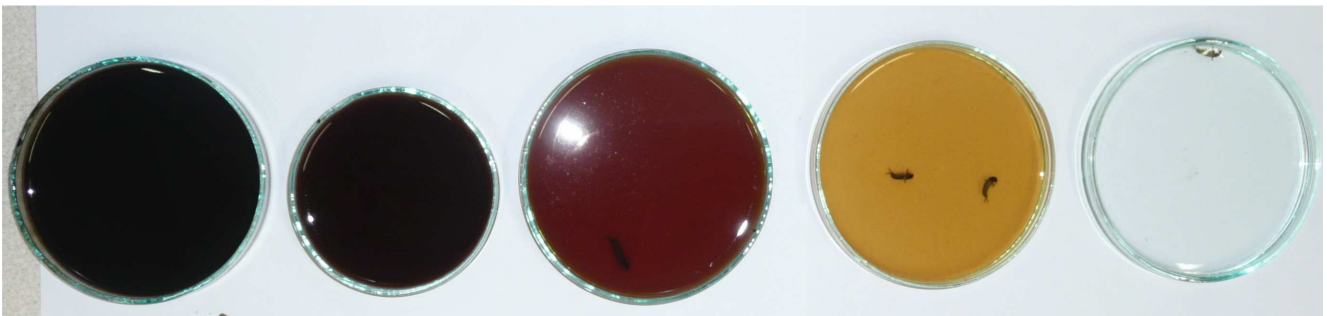
- Antonovics, J., Levin, D. A. 1980. The ecological and genetical consequences of density dependent regulation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 411-452.
- Bonser S.P., Aarssen L.W. 2009. Interpreting reproductive allometry: individual strategies of allocation explain size – dependent reproduction in plant populations. *Perspective in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 11: 31-40.
- Coelho F.F., Deboni L., Lopes F.S. 2005. Density-dependent reproductive and vegetative allocation in the aquatic plant *Pistia stratiotes* (Araeae). *Rev.Biol.Trop.* 53(3-4): 369-376.
- Gao Y.Z., Wang S.P., Han X.G., Chen Q.S., Zhou Z.Y., Patton B.D. 2007. Defoliation, nitrogen, and competition: effects on plant growth and resource allocation of *Cleistogenes squarrosa* and *Artemisia frigida*. *J. Plant Nutr. Soil. Sci.* 170: 115-122.
- Huang Y., Zhao X., Zhang H., Japhet W., Zuo X., Luo Y., Huang G. 2009. Allometric effects of *Agriophyllum squarrosum* in response to soil nutrients, water, and population density in the Horqiu Sandy Land of China. *J.Plant Biol.* 52: 210-219.
- Niklas K.J., Enquist B.J. 2002. Canonical rules for plant organ biomass partitioning and annual allocation. *American Journal of Botany*. 89(5): 812-819.
- Patty L., Halloy S., Hiltbrunner E., Korner C. 2010. Biomass allocation in herbaceous plants under grazing impact in the high semi-arid Andes. *Flora*, in press.
- Rodriguez M.A., Brown V.K. 1998. Plant competition and slug herbivory: effects on the yield and biomass allocation pattern of *Poa annua* L. *Acta Oecologica* 19(1): 37-46.

Weiner J. 2004. Allocation, plasticity and allometry in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 6: 207-215

2. Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę?

Kuciel M., Wandycz A., Węcek K.

Zakład Anatomii Porównawczej, Instytut Zoologii, UJ



PROJEKT

Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę.

Wstęp

Kofeina jest substancją psychoaktywną z grupy stymulatorów działającą jako antagonistą receptorów adenozynowych występujących na powierzchni komórek nerwowych (Fisone i in., 2004). Kofeina wywołuje pobudzenie organizmu głównie poprzez zwiększenie uwalniania jonów wapniowych. Niskie stężenie kofeiny w organizmie (1-4 mMol) wywołuje u kręgowców zwiększenie napięcia mięśniowego, wyższe stężenie (5-10 mMol) może prowadzić do powstawania przykurczy mięśniowych (Sandow, 1965). Jednoznaczny związek między działaniem kofeiny, a zwiększeniem aktywności mięśniowej został stwierdzony na przykładzie mięśni ssaków (Weber i Herz, 1968). Pobudzanie mięśni szkieletowych bezkręgowców przez kofeinę zostało stwierdzone u niewielu gatunków: krab (Huddart, 1969), szarańcza (Huddart i Abram, 1969) i pąkla (Bittar i in., 1974). Zwiększenie aktywności mięśniowej wiąże się ze wzrostem zapotrzebowania tlenowego, a to z kolei przejawia się zwiększeniem intensywności wentylacji/przepełukiwania narządów wymiany gazowej.

Jako przystosowanie do życia w środowisku wodnym larwy chruścików posiadają skrzelotchawki. W celu zwiększenia dostępności tlenu rozpuszczonego w wodzie larwy wymuszają przepływ wody wokół ciała wykonując tzw. „ruchy oddechowe”, które można zaobserwować zarówno u form domkowych jak i bezdomkowych (Stańczykowska, 1979). Im większe zapotrzebowanie tlenowe, tym intensywniej wykonywane są wspomniane ruchy oddechowe. Intensywność ruchów oddechowych u larw chruścików zwiększa się wraz ze wzrostem temperatury wody, co jest związane ze wzrostem tempa metabolizmu i zmniejszeniem ilości tlenu rozpuszczonego w wodzie.

Z danych literaturowych wiadomo, że wody powierzchniowe zanieczyszczone ściekami komunalnymi zawierają niewielkie stężenia kofeiny pochodzącej z konsumpcji (Froehner i in., 2010). Wiadomo również, że kofeina może wpływać na reprodukcję u bezkręgowców (Moore i in., 2007). Jest to szczególnie istotne, gdyż chruściki w randze rodziny są wykorzystywane jako organizmy bioindykatorowe.

Celem proponowanego projektu jest ustalenie czy chruściki reagują na kofeinę oraz zweryfikowanie hipotezy dotyczącej zależności aktywności chruścików od stężenia kofeiny.

Materiał i metody

Obiektem naszych badań będą larwy chruścików domkowych z rodziny Hydropsychidae, oznaczone za pomocą przewodnika flory i fauny wód śródlądowych (Engelhardt, 1998). Do eksperymentu zostanie odłowionych 15 osobników larwalnych z lewobrzeżnego dopływu potoku Jaszczce, a następnie będą pozbawione domków. Siedlisko z którego zostanie pobrany materiał do badań znajduje się znacznie powyżej poziomu gospodarstw, dzięki czemu pobrane do badań zwierzęta nie będą ekspozowane na działanie kofeiny pochodzącej ze ścieków komunalnych.

W czasie eksperymentu larwy chruścików będą umieszczone w szalkach Petriego zawierających roztwory kofeiny o wzrastającym gradiencie stężenia (0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%). Roztwory zostaną przygotowane poprzez rozpuszczenie w wodzie z potoku o temperaturze pokojowej odważonej na wadze laboratoryjnej ilości kawy rozpuszczalnej Jacobs Kronung. Zawartość kofeiny w kawie rozpuszczalnej wynosi 3g/100g suchego

proszku (Białas i in., 2009). W celu określenia aktywności larw w wodzie bez kofeiny, zostanie przeprowadzona próba kontrolna.

Wpływ każdego stężenia kofeiny będzie testowany na 3 osobnikach umieszczonych w odrębnych szalkach. Eksperyment zostanie przeprowadzony w temperaturze pokojowej. Aktywność larw będzie określana na podstawie czasu, w którym nie są wykonywane „ruchy oddechowe” w ciągu 15 min od chwili zanurzenia w roztworze, a następnie na tych samych osobnikach przez kolejne 15 min po upływie 1h (w tym czasie zwierzęta będą przebywały na szalkach z roztworem).

Zostanie obliczony współczynnik nieaktywności larw wg wzoru: $W_n = n/t$, gdzie W_n - współczynnik nieaktywności, n - czas nieaktywności [s], t - czas pomiaru [s]. Otrzymane dane będą zanalizowane przy pomocy regresji. Korelowane będą ze sobą współczynniki nieaktywności i stężenia roztworu kofeiny.

Literatura

Białas M, Łuczak H, Przygoński K. 2009. Zawartość kofeiny w wybranych napojach kawowych w proszku. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLII, 3: 426-430.

Fisone G, Borgkvist A, Usiello A. 2004. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 61: 857-872.

Froehner S, Scurupa K, Falcão F, Monnich C, Bessa M. 2010. Inputs of Domestic and Industrial Sewage in Upper Iguassu, Brazil Identified by Emerging Compounds.

Moore MT, Greenway ASL, Farris AJL, Guerra AB. 2007. Assessing caffeine as an emerging environmental concern using conventional approaches. *Arch. Environ. Contam. Toxic.*, 54: 31-35.

Sandow A. 1965. Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Pharmac. Rev.*, 17: 265-320.

Stańczykowska A. (red.). 1979. Zwierzęta bezkręgowce naszych wód. Warszawa. WSzIP, Warszawa.

Weber A, Herz R. 1968. The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on the reticulum. *J. Gen. Physiol.*, 52: 750-759.

RAPORT WERSJA PIERWSZA

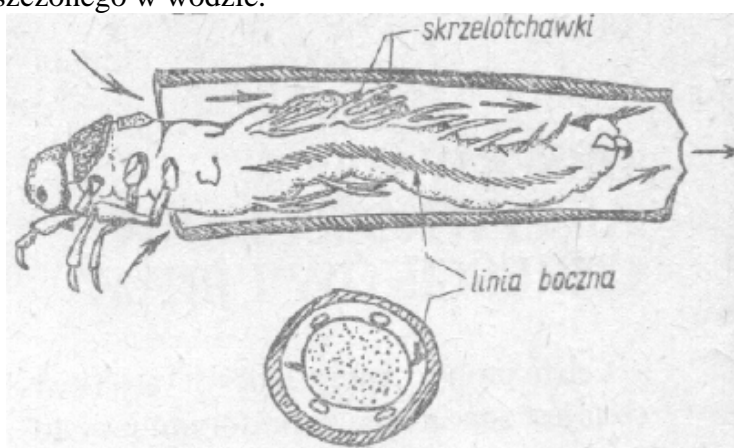
Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę.

Wstęp

Kofeina jest substancją psychoaktywną z grupy stymulatorów działającą jako antagonist receptorów adenozynowych występujących na powierzchni komórek nerwowych (Fisone i in., 2004). Kofeina wywołuje pobudzenie organizmu głównie poprzez zwiększenie uwalniania jonów wapniowych. Niskie stężenie kofeiny w organizmie (1-4 mMol) wywołuje u kręgowców zwiększenie napięcia mięśniowego, wyższe stężenie (5-10 mMol) może prowadzić do powstawania przykurczy mięśniowych (Sandow, 1965). Jednoznaczny związek

między działaniem kofeiny, a zwiększeniem aktywności mięśniowej został stwierdzony na przykładzie mięśni ssaków (Weber i Herz, 1968). Pobudzanie mięśni szkieletowych bezkręgowców przez kofeinę zostało potwierdzone wcześniej przeprowadzonymi badaniami (Huddart, 1969; Huddart i Abram, 1969; Bittar i in., 1974, Moore i in., 2008). Wzrost aktywności mięśniowej wiąże się ze wzrostem zapotrzebowania tlenowego, a to z kolei przejawia się zwiększeniem intensywności wentylacji/przepłukiwania narządów wymiany gazowej.

Narządem wymiany gazowej larw chruścików są skrzelotchawki. W celu zwiększenia dostępności tlenu rozpuszczonego w wodzie larwy wymuszają przepływ wody wokół ciała wykonując tzw. ruchy oddechowe (Stańczykowska, 1979), które można zaobserwować zarówno u form domkowych jak i bezdomkowych jako charakterystyczne ruchy odwłoka (ryc. 1). Im większe zapotrzebowanie tlenowe, tym intensywniej wykonywane są wspomniane ruchy. Ich intensywność u larw chruścików zwiększa się wraz ze wzrostem temperatury wody, co jest związane ze wzrostem tempa metabolizmu oraz zmniejszaniem się ilości tlenu rozpuszczonego w wodzie.



Ryc.1. Schemat ilustrujący ułożenie ciała chruścika w domku oraz sposób przepływu wody (strzałki) w czasie wykonywania ruchów oddechowych (za Stańczykowska 1979, zmodyfikowano).

Z danych literaturowych wiadomo, że wody powierzchniowe zanieczyszczone ściekami komunalnymi zawierają niewielkie stężenia kofeiny pochodzącej z konsumpcji (Froehner i in., 2010). Wiadomo również, że kofeina może wpływać na reprodukcję bezkręgowców (Moore i in., 2007).

Celem proponowanego projektu jest ustalenie czy chruściki reagują na kofeinę pochodzącą z kawy rozpuszczalnej oraz opisanie zależności aktywności chruścików od stężenia kofeiny. Przewidujemy, że aktywność larw chruścika będzie się zwiększać wraz ze wzrostem stężenia kofeiny.

Materiał i metody

Obiektem naszych badań były larwy chruścików domkowych z rodziny Hydropsychidae, które oznaczono za pomocą klucza (Engelhardt, 1998). Do przeprowadzenia eksperymentu larwy odłowiono z lewobrzeżnego dopływu potoku Jaszczce. Materiał pobrano z siedliska znajdującego się znacznie powyżej poziomu gospodarstw, dzięki czemu pobrane do badań zwierzęta nie były wystawione na działanie kofeiny pochodzącej ze ścieków komunalnych.

Przed rozpoczęciem pomiarów pozbawione domków larwy chruścików przetrzymywano w pojemniku z wodą ze strumienia. Po osiągnięciu przez wodę temperatury pokojowej losowo wybierane osobniki (średnia długość ciała - 1,4cm, dokładność pomiaru

1mm), umieszczane były pojedynczo w szalkach Petriego zawierających roztwory kawy rozpuszczalnej o wzrastającym gradiencie stężenia kofeiny (0%; 0,0025%, 0,005%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%). Roztwory przygotowano rozpuszczając w wodzie z potoku o temperaturze pokojowej odpowiednią ilość kawy rozpuszczalnej Jacobs Kronung (3g kofeiny w 100g suchego proszku (Białas i in., 2009)) odważonej na wadze laboratoryjnej (dokładność pomiaru 0,01g). Podczas przebiegu doświadczenia panowała stała temperatura otoczenia, aby wykluczyć wpływ czynnika temperaturowego na zmiany ilości tlenu w roztworze. W celu określenia aktywności larw w wodzie bez kofeiny, została przeprowadzona próba kontrolna na osobnikach umieszczonych w wodzie z potoku.

Wpływ każdego stężenia kofeiny został przetestowany na 3 osobnikach umieszczonych w odrębnych szalkach z roztworem przez trzech niezależnych obserwatorów. Każdy z nich wykonywał pomiary w analogiczny sposób. Aktywność larw określano na podstawie liczby ruchów odwłoka odpowiedzialnych za przepłukiwanie skrzelotchawek, które były zliczane przez 15 min od momentu zanurzenia zwierzęcia w roztworze, a następnie na tych samych osobnikach przez kolejne 15 min po upływie 1h od chwili włożenia ich do szalki. Zwierzęta przebywały w szalkach z roztworami przez cały czas trwania eksperymentu.

Otrzymane dane zostały zanalizowane przy pomocy korelacji. Korelowane były ze sobą liczba ruchów oddechowych i stężenia roztworu kofeiny zawartej w kawie rozpuszczalnej.

Wyniki

Pomiary liczby ruchów odwłoka (ruchy oddechowe)

Zebrano 18 odczytów liczby wygięć odwłoka (ruchów oddechowych) dla próby o czasie ekspozycji 0 - 15 min (I seria) oraz 12 odczytów liczby wygięć odwłoka dla próby o czasie ekspozycji 15 - 75 min (II seria). Następnie wszystkie odczyty przeliczono na liczbę ruchów na minutę (tabela 1). Z analizy wykluczono stężenie 0,5% z powodu śmierci wszystkich zwierząt w szalkach tuż po włożeniu ich do roztworu. W serii I pomiarów odczytano liczbę ruchów odwłoka dla stężeń 0,01 i 0,05% w czasie mniejszym niż 15 min z powodu śmierci zwierząt. W drugiej serii nie zliczano ruchów zwierząt umieszczonych w roztworach o stężeniach 0,1 i 0,05% oraz dwóch osobników umieszczonych w stężeniu 0,01%, ponieważ nie przeżyły one pierwszej godziny. W przypadku stężenia 0,01% przyjęto wartości zerowe.

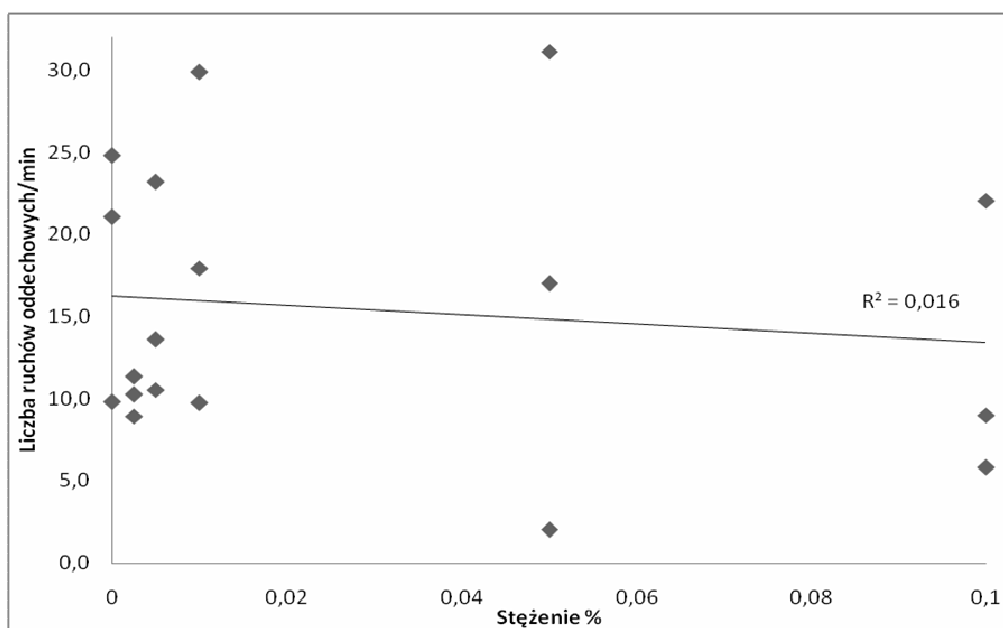
Tabela 1. Liczba ruchów oddechowych w zależności od stężenia kofeiny (%) w roztworze kawy rozpuszczalnej w przeliczeniu na 1 minutę po czasie ekspozycji 0-15 min (seria I) oraz 60-75 min (seria II).

stężenie kofeiny	seria I			seria II		
0 (kontrola)	9,8	24,8	21,1	24,7	27,3	10,3
0,0025	10,3	8,9	11,3	22,7	17,8	9,5
0,005	10,5	13,6	23,2	6,1	31,0	8,1
0,01	29,9	9,7	17,9	0	0	14,6
0,05	31,1	2,0	17	*	*	*
0,1	22,1	5,8	9	*	*	*
0,5	*	*	*	-	-	-

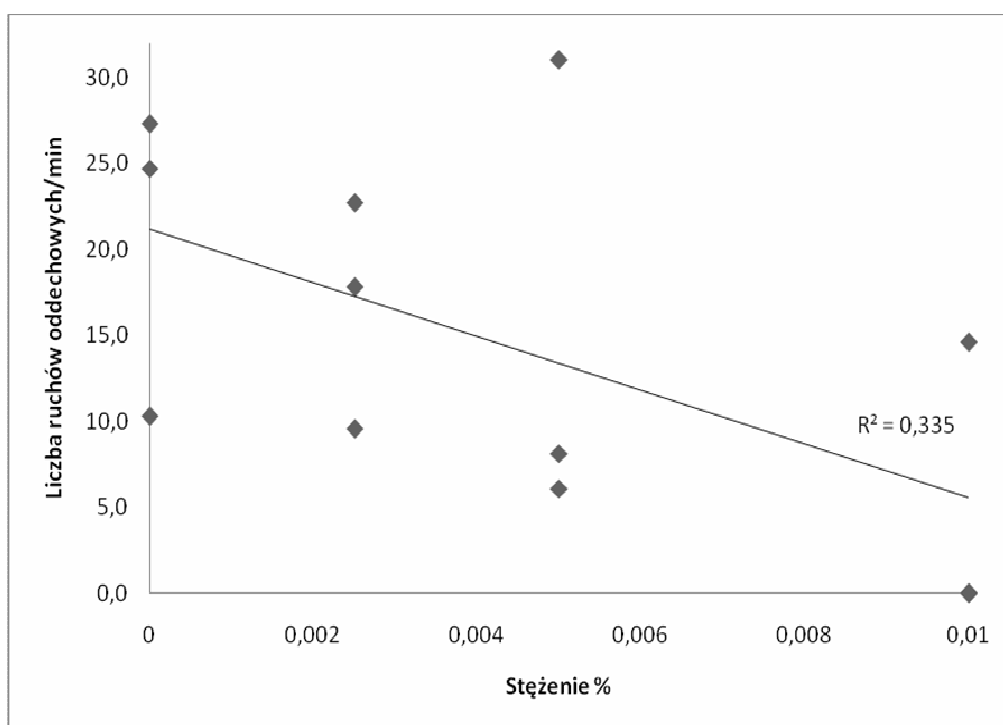
*- zgon

Obserwacje zachowania larw

W próbie kontrolnej oraz w roztworze kofeiny o niskim stężeniu (0,0025%) larwy chruścika wędrowały w szalce, a ruchy oddechowe obserwowano w przerwach między chodzeniem. Wędrowek nie obserwowano u osobników znajdujących się w roztworach o stężeniach 0,005% - 0,1%, a larwy często pozostawały w zwiniętej pozycji ciała przez okres nawet do kilku minut.



Ryc. 2. Zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych/min, a stężeniem procentowym kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej. Czas ekspozycji 0 - 15 min.



Ryc. 3. Zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych/min a stężeniem procentowym kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej. Czas ekspozycji 60 - 75 min.

Stwierdzono negatywną liniową zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych, a stężeniem kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej w serii I (ryc. 2; $F=0,27$; $df=1$, 16; $p=0,610$; $N=18$) oraz statystycznie istotną pozytywną zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych, a stężeniem kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej w serii II (ryc. 3; $F=5,03$; $df=1$, 10; $p=0,049$; $N=12$).

Dyskusja

Uzyskane wyniki nie pokrywają się z naszymi przewidywaniami. Mimo udokumentowanego pobudzającego działania kofeiny na bezkręgowce (Huddart, 1969; Huddart i Abram, 1969; Bittar i in., 1974; Moore i in., 2008), takiego działania na badanych przez nas larwach chruścików z rodziny Hydropsychidae nie zaobserwowaliśmy. Przeciwnie do naszych oczekiwań w drugiej serii pomiarów (po godzinie przebywania w roztworze) uzyskaliśmy negatywną istotną korelację. Jest to jednak wynikiem przyjęcia w dwóch przypadkach pomiarów liczby ruchów oddechowych wartości zerowej z powodu śmierci larw przed upływem godziny.

Larwy chruścików pobierane były z prawobrzeżnego strumienia spływającego ze stoku górskiego znajdującego się powyżej gospodarstw, dlatego można wnioskować, że larwy nie miały wcześniej kontaktu z kofeiną pochodzącą ze ścieków komunalnych i nie wykazywały podwyższonego progu pobudliwości na kofeinę.

Uzyskane rezultaty mogą być spowodowane tym, że źródłem kofeiny była kawa rozpuszczalna, która z powodu zawartości garbników powoduje obniżenie pH (da Silveira i in. 2007), podczas gdy optymalnym pH dla badanych chruścików jest 6,8 - 7 (Guerold i in., 1991). Dane literaturowe wskazują, że w zakwaszonych zbiornikach wodnych larwy chruścików nie występują (Guerold i in., 1991). Pobudzający wpływ kofeiny mógł zatem zostać zamaskowany przez silniej działający bodziec jakim jest niskie pH. O toksycznym działaniu roztworu kawy rozpuszczalnej może świadczyć również śmierć wszystkich larw chruścików przy 0,05% stężeniu kofeiny, podczas gdy dafnie *Ceriodaphnia dubia* są zdolne do przeżycia w 8% stężeniu kofeiny (Moore i in., 2008). Ponadto obecność w rozpuszczalnej kawie bioaktywnych amin (da Silveira i in., 2007) może dodatkowo wpływać na fizjologię larw chruścików.

Przeprowadzony eksperyment nie wykazał wyraźnego trendu w zmianie aktywności badanych larw chruścików z rodziny Hydropsychidae na kofeinę pochodzącą z roztworu kawy rozpuszczalnej i nie pozwolił na zweryfikowanie hipotezy dotyczącej zależności aktywności chruścików od stężenia kofeiny. Wykazał natomiast, że roztwór kawy rozpuszczalnej jest dla nich toksyczny (najniższe stężenia, które spowodowały zgon po 74,18 i 2 min wynosiły odpowiednio 0,01 i 0,05%).

Powyższe rozważania dotyczą wpływu różnego stężenia kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej na larwy chruścików z rodziny Hydropsychidae. Nasz projekt zakładał przeprowadzenie doświadczenia z zastosowaniem czystej kofeiny. Problemy logistyczne uniemożliwiły jednak realizację zaplanowanego eksperymentu w takiej postaci. W związku z tym wyniki, które uzyskaliśmy nie mogą jednoznacznie świadczyć o wpływie kofeiny na aktywność chruścików i należałoby je w przyszłości przeprowadzić w sposób pierwotnie zaplanowany.

Literatura

Białas M., Łuczak H., Przygoński K., 2009: Zawartość kofeiny w wybranych napojach kawowych w proszku. *Bromat. Chem. Toksykol.* 426 – 430.

da Silveira T.M.L., Tavares E., Gloria M.B.A., 2007: Profile and levels of bioactive amines in instant coffee *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 451–457.

Fisone G, Borgkvist A, Usiello A. 2004: Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *„Cell Mol Life Sci”*. 61: 857–872.

Froehner S., Scurupa K., Falcão F., Monnich C., Bessa M., 2010: Inputs of Domestic and Industrial Sewage in Upper Iguassu, Brazil Identified by Emerging Compounds

Guerold F., Vein D., Jacquemin G., 1991: Ephemeroptera, plecoptera, trichoptera communities of acidic and non acidic streams in the vosges mountains (northeastern France): a preliminary study. *Revue des sciences de l'eau*, 4: 299-314.

Moore M.T., Greenway A.S.L., Farris A.J.L., Guerra A.B., 2007: Assessing caffeine as an emerging environmental concern using conventional approaches. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54: 31–35.

Sandow A., 1965: Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Pharmac. Rev.* 17: 265-320.

Stańczykowska A. (red.), *Zwierzęta bezkręgowce naszych wód*. Warszawa. WSzIP 1979.

Weber A., Herz, R. 1968: The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on the reticulum. *J. gen. Physiol.* 52: 750-759.

RECENZJE

Magdalena Zagalska-Neubauer

Recenzja projektu: „Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę.”

Prezentowany projekt dotyczy ciekawego tematu, godna pochwały jest jego prostota. Brak jest abstraktu. Wstęp jest wyważony, a obiekt badań i czynnik wpływający na ten obiekt dobrze zaprezentowany. Całość odpowiednio wzbogacona literaturą. Cel i oczekiwania klarowne. Jednak jeśli pobudzenie mięśni szkieletowych (czy to prawidłowa nomenklatura dla bezkręgowców?) pod wpływem kofeiny jest udowodnione to co jest nowatorskiego w proponowanym projekcie? Nie znalazła się też informacja dla potencjalnego laika: jak kofeina dostanie się do organizmu chruścików. Materiał i metody wymagają dopracowania. Nie jest np. jasne co znaczy, że: „Wpływ każdego stężenia kofeiny został przetestowany na 3 osobnikach umieszczonych w odrębnych szalkach z roztworem przez trzech niezależnych obserwatorów.” Pewne informacje wymagają uzupełnienia lub wyjaśnienia, np.: ile było powtórzeń, ile osobników w sumie poddano eksperymentowi? Czy te same osobniki były przekładane do kolejnych szalek ze wzrastającym stężeniem? Czy niezależnie testowano osobniki w różnych stężeniach? W rzeczywistych badaniach konieczne byłoby przeprowadzenie badań pilotowych mających na celu sprawdzenie na podpróbie tolerancji

gatunku na dany czynnik oraz eksperymentalne ustalenie progu tolerancji/przeżywalności na ekspozycję. Nie ma sensu prowadzenie badań wpływu czynników na fizjologię organizmu bez znajomości wartości progowych. Wyniki przedstawione są zwięzłe, jednak dość chaotycznie. Czas ekspozycji dla II serii wynosił chyba 60-75 min (nie 15-75)? Dlaczego w przypadku stężenia 0,01% przyjęto wartości zerowe? To jest błąd – w tym miejscu nie mamy danych ponieważ zwierzęta nie uczestniczyły w całym eksperymencie bo padły. Należałoby sprawdzić jak pozbycie się tych zer wpłynie na wynik, a konkretnie na zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych, a stężeniem kawy. W tabeli należałoby dodać informację: osobnik 1, os.2, os. 3. Bez nagłówka treść tabeli jest niejasna. Użycie „0” oznacza, że osobnik nie wykonał żadnego ruchu oddechowego, a nie że zdechł. Może zamiast gwiazdek, dla oznaczenia śmierci osobnika, należałoby użyć krzyżyka (bardziej działa na wyobraźnię czytelnika). Autorzy powinni też rozważyć zastosowanie analizy regresji. Poprowadzona dyskusja wymaga dopracowania. Niepokoi fakt, że badacze wiedzieli przed rozpoczęciem doświadczenia, że kawa obniża pH, a mimo to nie zaplanowali pomiarów pH (powinny być uwzględnione dalej jako kowariata w analizie). Mając na uwadze warunki w jakich przyszło prowadzić eksperyment Autorzy mogli też zrezygnować/zmienić z przeprowadzenia tego eksperymentu. Ponadto, jeśli istnieje zależność między pH roztworu a stężeniem kofeiny oraz aktywnością oddechową chruścików to nie jest możliwe wnioskowanie wyłącznie o wpływie kofeiny na aktywność organizmów. W literaturze stwierdzam braki. Cytowania nie mają pokrycia w spisie literatury.

Podsumowując, stwierdzam że temat projektu jest ciekawy, choć w zasadzie powinien brzmieć: Czy chruściki z rodziny *Hydropsychidae* są wrażliwe na kawę. Niemniej konieczne jest dopracowanie metodyczne samego pomysłu oraz rzetelna analiza wyników.

Maciej Bonk

Recenzja projektu: „Czy chruściki z rodziny *Hydropsychidae* są wrażliwe na kofeinę.”

Praca pt. Czy chruściki z rodziny *Hydropsychidae* są wrażliwe na kofeinę. podejmuje ważny temat zanieczyszczenia wód oraz sposobów ich wczesnego i taniego wykrywania z zastosowaniem bioindykatorów. Jest to kwestia o tyle ciekawa, że bada wpływ zanieczyszczenia dość rzadkiego, o którym niewiele wiadomo. Autorzy podjęli się przeprowadzenia powtarzalnego eksperymentu. Wyniki tych badań są jednak sprzeczne z hipotezą biologiczną i sugerują konieczność dalszego zgłębiania tematu. Hipoteza biologiczna jest jasno postawiona, choć moim zdaniem niepełna; można już na etapie pomysłu przypuszczać, że zwiększanie stężenia kofeiny powoduje wzrost aktywności do pewnego momentu, po którym aktywność spada, a organizmy modelowe umierają. W pracy znalazły się liczne błędy, z których najbardziej rażący jest brak abstraktu oraz źle zidentyfikowany badany takson. Ponadto w tekście (str. 5 wers 11) wspomniane jest, że uzyskano pozytywny związek stężenia kofeiny i ruchów oddechowych, podczas gdy zamieszczone w pracy wykresy pokazują trendy negatywne. Autorzy nie zwrócili też w dyskusji uwagi na to, że odporniejsze na kofeinę dafnie żyją w wodach o gorszej jakości. Często bardziej zanieczyszczonych niż górskie strumienie. W moim odczuciu sprawia to, że chruściki są bardziej wrażliwymi bioindykatorami wód, a ich zanik w wodach może świadczyć już o niewielkich, niekorzystnych zmianach jakości wód. Dużym udoskonaleniem eksperymentu byłoby zwiększenie próby oraz przeprowadzenie doświadczenia w warunkach stałego pH. Ponadto, słuszne wydaje się zastosowanie nieco bardziej skomplikowanych technik statystycznych jak ANCOVA.

Szczegółowe zestawienie błędów, w tym edytorskich znajduje się poniżej:

1. str. 1 wers 1. Brak znaku zapytania.
2. ryc. 1. str. 1. Dobór ryciny jest niekonsekwentny. Autorzy badają działanie kofeiny na chruściki z rodziny Hydropsichidae, które mają larwy nie budujące domków, tymczasem na rycinie przedstawiony jest chruścik z larwą budującą domek.
3. str. 3 wers 1. Nie jest to **proponowany** projekt. Autorzy przedstawiają w maszynopisie to co już zrobili.
4. str. 3. wers 15. Chruściki do badań zostały źle oznaczone do rodziny (patrz pkt.1).
5. str. 3 wers. 38. Prawdopodobnie lepiej użyć regresji liniowej, która lepiej tłumaczy zmienność wynikającą z zastosowania kontrolowanego czynnika. Mówi nie tylko i sile związku, ale też czy zmienna zależna wynika ze zmiennej niezależnej. W przypadku korelacji nie wiadomo co z czego wynika, czy też skorelowane cechy są wynikiem działania innego czynnika, którego nie kontrolujemy. Jeszcze lepszym rozwiązaniem byłoby zastosowanie analizy kowariancji, która jako współzmienną uwzględniałaby parametry: masę lub długość larw, lub oba na raz.
6. str. 4 wers 10. niejasne sformułowanie: „W przypadku stężenia 0,01% przyjęto wartości zerowe”.
7. str. 6 wers 23. Literówka: „optymalne” zamiast „optymalne”.
8. str. 6 wers 34. Eksperyment nie jest jednoznaczny. W pierwszej serii wpływ kofeiny był istotny, w drugiej powodował głównie śmiertelność, co oznacza, że dłuższe działanie kofeiny ma niekorzystny wpływ na badane organizmy.

Katarzyna Chrzęścik

Recenzja raportu: „Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę.”

Autorzy projektu podjęli się zbadania wrażliwości chruścików na kofeinę. W dobrze napisanym wstępie wykazali, że zagadnienie to jest ciekawe a wyniki mogą mieć zastosowanie praktyczne. Ścieki mogą zawierać niewielkie ilości kofeiny i mogą potencjalnie oddziaływać na organizmy wodne. Problem ten może być szczególnie istotny w górskich miejscowościach, gdzie w dalszym ciągu część ścieków trafia do małych cieków wodnych. Ten ciekawy temat nie został jednak zrealizowany. Po pierwsze w materiałach i metodach autorzy piszą już nie o wrażliwości, ale o pomiarze aktywności chruścików mierzoną za pomocą ilości ruchów oddechowych. Wynika więc, że za miarę wrażliwości uznali oni ilość ruchów oddechowych. Same badania wykonane były w sposób uniemożliwiający wnioskowanie. Dużym błędem było zastosowanie kawy, a nie czystej kofeiny, o czym autorzy uczciwie informują w dyskusji. Na badane chruściki działało dużo więcej czynników niż planowali autorzy, a efekty ich działania nie mogą zostać rozdzielone (zawartość kofeiny, pH roztworu, zawartość innych substancji). Ponadto roztwory nie zostały dobrane w sposób odpowiedni (duża śmiertelność) oraz za małą uwagę poświęcili autorzy najniższym stężeniom kofeiny.

Autorzy nie ustrzegli się również innego rodzaju błędów. W raporcie nie został zamieszczony abstrakt. Niektóre informacje z wstępu nie pokrywają się z informacjami zawartymi w dyskusji (nie wiadomo np. czy chruściki pobierane były z prawobrzeżnego czy lewobrzeżnego dopływu strumienia „Jaszcze”). Autorzy piszą również, że stwierdzono negatywną liniową zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych a stężeniem kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej w serii I podczas gdy poziom istotności wskazuje na brak jakichkolwiek zależności. W następnym zdaniu pojawia się informacja o pozytywnej zależności między tymi cechami podczas gdy z wykresu i dyskusji jasno wynika, że zależność

jest negatywna. Pominięty został też fakt, że zależności jest na granicy istotności. Zarówno w materiałach jak i dyskusji powtórzony został fragment dotyczący braku kontaktu złowionych chruścików z kofeiną.

Joanna Kajzer

Recenzja raportu: „Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę.”

1. Tytuł: pytanie nie zakończone pytajnikiem.

2. Brak abstraktu.

3. Wstęp

Akapit 2: ostatnie zdanie nie do końca na temat, autorzy nie badają wpływu wzrostu temperatury wody na intensywność ruchów odwłoka.

Akapit 3: w jaki sposób kofeina wpływa na reprodukcję bezkręgowców?

Akapit 4: Niezgodność czasu („przewidujemy”)

4. Materiał i metody

Jeśli dobrze rozumiem, materiałem wziętym do badań są chruściki należące do różnych gatunków. Przy tak niewielkiej próbie eksperymentalnej, obok zmienności osobniczej w reakcji mogły się również zaznaczyć różnice gatunkowe.

Czy dawki ustalono arbitralnie? Z tego co wiem był jakiś eksperyment pilotażowy. Warto o nim wspomnieć.

Wpływ każdego stężenia kofeiny został przetestowany na 3 osobnikach, a jak wyglądało to w przypadku kontroli? Brak opisu. Czy kontrolę prowadzono w tym samym czasie i warunkach temperaturowych co eksperyment?

Czym wykonywano pomiary ciała chruścików i z jaką dokładnością?

Czy obserwatorzy „skalibrowali się”? tzn. wszyscy uznawali za ruch odwłoka to samo zachowanie?

Ostatni akapit: „korelowane były (...) i stężenie”

5. Wyniki

Niejasne jest dla mnie sformułowanie „odczyt”, tzn. czy odczyt znaczy tyle co wygięcie odwłoka i że notowano 18 wygięć odwłoka?

w czasie „krótszym” zamiast „mniejszym”

Co to znaczy, że w przypadku stężenia 0,01% przyjęto wartości zerowe? Nie były obserwowane w tym czasie ruchy odwłoka?

„Ruchy oddechowe obserwowano w przerwach między chodzeniem” – nasuwa niechcianą zapewne interpretację, trzeba to ująć inaczej.

Skoro nie obserwowano wędrówek u osobników w roztworach 0,005 – 0,1 % tzn. że nie wykonywały ruchów oddechowych? (w nawiązaniu do zdania poprzedzającego)

Wynik serii II to nie jest pozytywna zależność.

6. Dyskusja

Dafnie są znacznie bardziej odporne, a chruściki to bioindykatory – warto to skomentować.

„(...) spowodowały zgon po 74,18 i 2 min wynosiły odpowiednio 0,01 i 0,05%” – jakich stężeń dotyczą podane wartości czasowe?

Skoro badany był wpływ kofeiny to dlaczego woda w eksperymencie miała t pokojową? Tutaj dodatkowo na wyniki mógł nałożyć się efekt interakcji temperatury wody i efektu kawy. Brakuje mi tego w dyskusji.

Niestety, badacze sprawdzili reakcję chruścików na kawę a nie kofeinę, o czym słusznie dyskutują.

W całym tekście zdarzają się literówki.

Magdalena Mikowska

Recenzja projektu: Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę.

- Zaproponowany przez autorów temat badawczy jest bardzo interesujący i wart realizacji. Pierwszym i najważniejszym zarzutem, który się nasuwa jest to, iż autorzy wykonali pracę używając kawy, a wszelkie wnioski wysnuwają na temat kofeiny, w dyskusji jednak przyznają się do swojego błędu.
- W pracy brakuje abstraktu.
- Negatywny wpływ niskiego pH kawy był do przewidzenia lub nietrudny do odszukania w literaturze.
- Autorzy nie uniknęli błędów stylistycznych („...ruchy oddechowe obserwowano w przerwach między chodzeniem,...”) i językowych. W tekście zauważyć można kilka nieścisłości, np. miejsce poboru prób larw – w różnych miejscach tekstu jest to lewy lub prawy brzeg potoku. Tekst dotyczący metod warto byłoby urozmaicić o jakiś schemat eksperymentu.
- Autorzy najlepiej jak to możliwe uargumentowali „doniosłość naukową” realizowanego przez nich projektu, szkoda tylko, że wykonali go w sposób, który nie pozwolił odpowiedzieć na zawarte w tytule pytanie badawcze.

Agata Pietrzyk

Recenzja projektu: „Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę”

Przedstawione badania wpływu kofeiny na chruściki opierają się na ciekawym, choć nieco niekonwencjonalnym, pomysłem badawczym. Zagadnienie reakcji przedstawicieli rodziny Hydropsychidae na kofeinę wydaje się stosunkowo abstrakcyjne i mało aplikacyjne. Jednak w mojej ocenie Autorzy bardzo dobrze poradzi sobie z wyjaśnieniem celowości i znaczenia swoich badań. Przytoczone we wstępie publikacje w dużym stopniu przekonują do celowości badań i pozwalają czytelnikowi zainteresować się tematem. Najmniej przekonujący wydaje się argument o znaczeniu kofeiny jako składnika zanieczyszczającego cieki wodne, brakuje konkretnej informacji, co oznaczają „niewielkie stężenia kofeiny pochodzącej z konsumpcji (Froehner i in., 2010)”, czy mogą to być stężenia zbliżone do tych zastosowanych podczas eksperymentu? Trudno w opisywanych badaniach dopatrywać się aspektów praktycznych. Autorzy nie ustrzegli się błędów wpływających na wartość i odbiór pracy. Pomyłki dotyczą m.in. strony strumienia, z której zostały pobrane próby (we wstępie – lewobrzeżna, w dyskusji – prawobrzeżna) czy określania zależności pomiędzy liczbą ruchów oddechowych a stężeniem kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej w serii II jako pozytywnej w „Wynikach” (nieprawidłowo) i jako negatywnej (prawidłowo) – w „Dyskusji”. Dużym błędem merytorycznym jest określenie zależności pomiędzy liczbą ruchów oddechowych a stężeniem kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej w serii I jako „negatywnie istotnej” – na podstawie wartości $p=0,610$ domyślam się, że powinno być raczej: „nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności”...

Trudno się zgodzić z przedostatnim akapitem dyskusji, mówiącym, że nie udało się zweryfikować hipotezy, ponieważ eksperyment nie wykazał wyraźnego trendu. Brak wyraźnego trendu nie jest podstawą do mówienia o niemożności zweryfikowania hipotezy, jest nią natomiast nie do końca prawidłowo przeprowadzone doświadczenie i wpływ innych niż kofeina czynników – na przykład kwaśnego pH roztworów.

Jest też kilka drobnych – aczkolwiek istotnych – błędów, m.in.: stężenie molowe podaje się w molach na jednostkę objętości (np. mMol/ml); okres czasowy II serii jest nieprawidłowo podany jako 15-75 minut, w dyskusji podane są wyniki czasu zgonu (brakuje jednostki przy 74,18), które powinny być zostać ujęte w rozdziale „Wyniki”. Przeszkadzają także niektóre sformułowania językowe, jak np. zamiast „wpływ każdego stężenia kofeiny” należałoby raczej napisać „wpływ kofeiny w poszczególnych stężeniach”, a ostatnie zdanie przeformułować, bo wynika z niego, że „wyniki należałoby przeprowadzić w sposób pierwotnie zaplanowany”.

W pracy brakuje abstraktu.

RAPORT WERSJA OSTATECZNA

Czy chruściki z rodziny Hydropsychidae są wrażliwe na kofeinę?

Kuciel Michał, Wandycz Anna, Węcek Karolina

Streszczenie

Kofeina jest substancją o charakterze stymulującym, która dostaje się do wód powierzchniowych wraz ze ściekami komunalnymi. Proponowany eksperyment miał na celu wykazanie wpływu kofeiny z roztworu kawy rozpuszczalnej na aktywność larw chruścików z rodziny Hydropsychidae. W tym celu przygotowano serię roztworów kawy o rosnącym gradiencie stężenia kofeiny, którymi testowano pozyskane z naturalnego siedliska osobniki. Uzyskane wyniki nie wykazały istotnych statystycznie różnic w aktywności larw poddanych działaniu kofeiny z roztworu kawy rozpuszczalnej. Jednak wyników tych nie można traktować jako wyjaśnienie wpływu działania kofeiny na larwy chruścików ze względu na zbyt dużą liczbę dodatkowych związków chemicznych zawartych w kawie.

Wstęp

Kofeina jest substancją psychoaktywną z grupy stymulatorów działającą jako antagonist receptorów adenylicznych występujących na powierzchni komórek nerwowych (Fisone i in., 2004). Kofeina wywołuje pobudzenie organizmu głównie poprzez zwiększenie uwalniania jonów wapniowych. Niskie stężenie kofeiny w organizmie (1-4 mMol) wywołuje u kręgowców zwiększenie napięcia mięśniowego, wyższe stężenie (5-10 mMol) może prowadzić do powstawania przykurczy mięśniowych (Sandow, 1965). Jednoznaczny związek między działaniem kofeiny, a zwiększeniem aktywności mięśniowej został stwierdzony na przykładzie mięśni ssaków (Weber i Herz, 1968). Pobudzanie mięśni szkieletowych bezkręgowców przez kofeinę zostało potwierdzone wcześniej przeprowadzonymi badaniami (Huddart, 1969; Huddart i Abram, 1969; Bittar i in., 1974, Moore i in., 2008). Wzrost aktywności mięśniowej wiąże się ze wzrostem zapotrzebowania tlenowego, a to z kolei przejawia się zwiększeniem intensywności wentylacji/przepłykiwania narządów wymiany gazowej.

Narzędziem wymiany gazowej larw chruścików są skrzelotchawki i to głównie przez nabłonek skrzelotchawek kofeina przenika do ciała zwierzęcia. W celu zwiększenia dostępności tlenu rozpuszczonego w wodzie larwy wymuszają przepływ wody wokół ciała wykonując tzw. ruchy oddechowe (Stańczykowska, 1979), które można zaobserwować zarówno u form domkowych jak i bezdomkowych jako charakterystyczne ruchy odwłoka. Im większe zapotrzebowanie tlenowe, tym intensywniej wykonywane są wspomniane ruchy. Ich intensywność u larw chruścików zwiększa się wraz ze wzrostem temperatury wody, co jest związane ze wzrostem tempa metabolizmu oraz zmniejszaniem się ilości tlenu rozpuszczonego w wodzie.

Z danych literaturowych wiadomo, że wody powierzchniowe zanieczyszczone ściekami komunalnymi zawierają niewielkie stężenia kofeiny pochodzącej z konsumpcji (Froehner i in., 2010). Wiadomo również, że kofeina może wpływać na reprodukcję bezkręgowców (Moore i in., 2007).

Celem proponowanego projektu jest ustalenie czy chruściki reagują na kofeinę pochodzącą z kawy rozpuszczalnej oraz opisanie zależności aktywności chruścików od stężenia kofeiny. Prawdopodobnie aktywność larw chruścika będzie się zwiększać wraz ze wzrostem stężenia kofeiny, aż do momentu, gdy aktywność zacznie spadać a zwierzęta zaczną umierać.

Materiał i metody

Obiektem naszych badań były larwy chruścików z rodziny Hydropsychidae, które oznaczono za pomocą klucza (Engelhardt, 1998). Do przeprowadzenia eksperymentu larwy odłowiono z lewobrzeżnego dopływu potoku Jaszczce. Materiał pobrano z siedliska znajdującego się znacznie powyżej poziomu gospodarstw, dzięki czemu pobrane do badań zwierzęta nie były wystawione na działanie kofeiny pochodzącej ze ścieków komunalnych.

Przed rozpoczęciem pomiarów pozbawione oprzędów larwy chruścików przetrzymywano w pojemniku z wodą ze strumienia. Po osiągnięciu przez wodę temperatury pokojowej losowo wybierane osobniki (średnia długość ciała - 1,4 cm, pomiaru dokonywano linijką, dokładność pomiaru 1mm), umieszczane były pojedynczo w szalkach Petriego zawierających roztwory kawy rozpuszczalnej o wzrastającym gradiencie stężenia kofeiny (0%; 0,0025%, 0,005%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%). Roztwory przygotowano rozpuszczając w wodzie z potoku o temperaturze pokojowej odpowiednią ilość kawy rozpuszczalnej Jacobs Kronung (3g kofeiny w 100g suchego proszku (Białas i in., 2009)) odważonej na wadze laboratoryjnej (dokładność pomiaru 0,01g). Podczas przebiegu doświadczenia panowała stała temperatura otoczenia, aby wykluczyć wpływ czynnika temperaturowego na zmiany ilości tlenu w roztworze. W celu określenia aktywności larw w wodzie bez kofeiny, została przeprowadzona próba kontrolna na osobnikach umieszczonych w wodzie z potoku.

Zliczanie ruchów oddechowych było wykonywane równocześnie w analogiczny sposób przez trzy osoby przeprowadzające eksperyment (każda osoba wykonywała pomiar liczby ruchów oddechowych jednego osobnika w danym roztworze). Aktywność larw określano na podstawie liczby ruchów odwłoka odpowiedzialnych za przepłukiwanie skrzelotchawek, które były zliczane przez 15 min od momentu zanurzenia zwierzęcia w roztworze, a następnie na tych samych osobnikach przez kolejne 15 min po upływie 1h od chwili włożenia ich do szalki. Zwierzęta przebywały w szalkach z roztworami do których były wrzucone przez cały czas trwania eksperymentu.

Otrzymane dane zostały zanalizowane przy pomocy korelacji. Korelowane były ze

sobą liczbą ruchów oddechowych i stężenia roztworu kofeiny zawartej w kawie rozpuszczalnej.

Wyniki

Pomiary liczby ruchów odwłoka (ruchy oddechowe)

Zebrano 18 odczytów liczby ruchów odwłoka (ruchów oddechowych) dla próby o czasie ekspozycji 0 - 15 min (I seria) oraz 12 odczytów liczby ruchów odwłoka dla próby o czasie ekspozycji 60 - 75 min (II seria). Następnie wszystkie odczyty przeliczono na liczbę ruchów na minutę (tabela 1). Z analizy wykluczono stężenie 0,5% z powodu śmierci wszystkich zwierząt w szalkach tuż po włożeniu ich do roztworu. W serii I pomiarów odczytano liczbę ruchów odwłoka dla stężeń 0,01 i 0,05% w czasie mniejszym niż 15 min z powodu śmierci zwierząt. W drugiej serii nie zliczano ruchów zwierząt umieszczonych w roztworach o stężeniach 0,1 i 0,05% oraz dwóch osobników umieszczonych w stężeniu 0,01%, ponieważ nie przeżyły one pierwszej godziny.

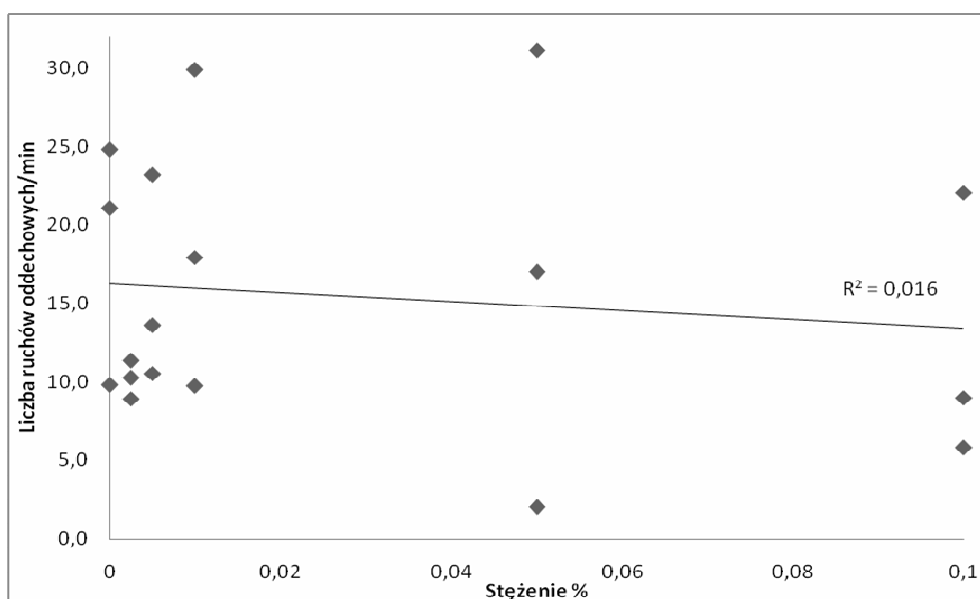
Tabela 1. Liczba ruchów oddechowych w zależności od stężenia kofeiny (%) w roztworze kawy rozpuszczalnej w przeliczeniu na 1 minutę po czasie ekspozycji 0-15 min (seria I) oraz 60-75 min (seria II).

stężenie kofeiny	seria I			seria II		
	osobnik I	osobnik II	osobnik III	osobnik I	osobnik II	osobnik III
0 (kontrola)	9,8	24,8	21,1	24,7	27,3	10,3
0,0025	10,3	8,9	11,3	22,7	17,8	9,5
0,005	10,5	13,6	23,2	6,1	31,0	8,1
0,01	29,9	9,7	17,9	+	+	14,6
0,05	31,1	2,0	17	+	+	+
0,1	22,1	5,8	9	+	+	+
0,5	+	+	+	-	-	-

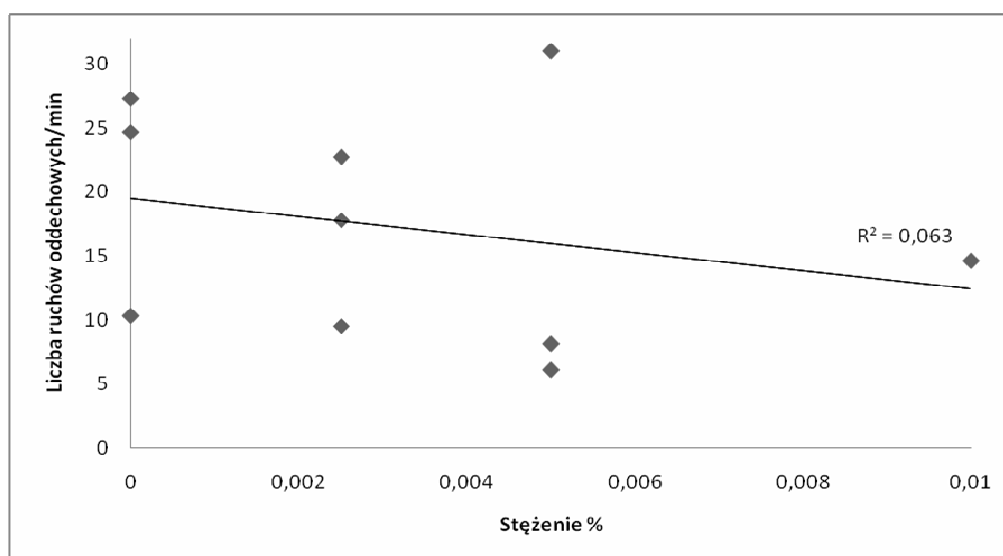
*+ zgon

Obserwacje zachowania larw

W próbie kontrolnej oraz w roztworze kofeiny o niskim stężeniu (0,0025%) larwy chruścika wędrowały po dnie szalki. Wędrowek nie obserwowano u osobników znajdujących się w roztworach o stężeniach 0,005% - 0,1%, a larwy często pozostawały w zwiniętej pozycji ciała przez okres nawet do kilku minut.



Ryc. 1. Zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych/min, a stężeniem procentowym kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej. Czas ekspozycji 0 - 15 min.



Ryc. 2. Zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych/min a stężeniem procentowym kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej. Czas ekspozycji 60 - 75 min.

Stwierdzono negatywną liniową zależność pomiędzy liczbą ruchów oddechowych, a stężeniem kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej w serii I (ryc. 1; $F=0,27$; $df=1$, 16; $p=0,610$; $N=18$) i w serii II (ryc. 2; $F=0,53$; $df=1$, 8; $p=0,481$; $N=10$).

Dyskusja

Uzyskane wyniki nie pokrywają się z naszymi przewidywaniami. Mimo udokumentowanego pobudzającego działania kofeiny na bezkręgowce (Huddart, 1969; Huddart i Abram, 1969; Bittar i in., 1974; Moore i in., 2008), takiego działania na badanych przez nas larwach chrzączek z rodziny Hydropsychidae nie zaobserwowaliśmy.

Uzyskane rezultaty mogą być spowodowane tym, że źródłem kofeiny była kawa rozpuszczalna, która z powodu zawartości garbników powoduje obniżenie pH (da Silveira i

in. 2007), podczas gdy optymalnym pH dla badanych chruścików jest 6,8 - 7 (Guerold i in., 1991). Dane literaturowe wskazują, że w zakwaszonych zbiornikach wodnych larwy chruścików nie występują (Guerold i in., 1991). Pobudzający wpływ kofeiny mógł zatem zostać zamaskowany przez silniej działający bodziec jakim jest niskie pH. O toksycznym działaniu roztworu kawy rozpuszczalnej może świadczyć również śmierć wszystkich larw chruścików przy 0,05% stężeniu kofeiny, podczas gdy dafnie *Ceriodaphnia dubia* są zdolne do przeżycia w 8% stężeniu kofeiny (Moore i in., 2008). Ponadto obecność w rozpuszczalnej kawie bioaktywnych amin (da Silveira i in., 2007) może dodatkowo wpływać na fizjologię larw chruścików.

Przeprowadzony eksperyment nie wykazał wyraźnego trendu w zmianie aktywności badanych larw chruścików z rodziny Hydropsychidae na kofeinę pochodzącą z roztworu kawy rozpuszczalnej. Wykazał natomiast, że roztwór kawy rozpuszczalnej jest dla nich toksyczny i zgon nastąpił już przy stężeniu 0,01%.

Powyższe rozważania dotyczą wpływu różnego stężenia kofeiny w roztworze kawy rozpuszczalnej na larwy chruścików z rodziny Hydropsychidae. Nasz projekt zakładał przeprowadzenie doświadczenia z zastosowaniem czystej kofeiny. Problemy logistyczne uniemożliwiły jednak realizację zaplanowanego eksperymentu w takiej postaci. W związku z tym wyniki, które uzyskaliśmy nie mogą jednoznacznie świadczyć o wpływie kofeiny na aktywność chruścików, dlatego badania należałoby w przyszłości przeprowadzić w sposób pierwotnie zaplanowany.

Literatura

Białas M., Łuczak H., Przygoński K., 2009: Zawartość kofeiny w wybranych napojach kawowych w proszku. *Bromat. Chem. Toksykol.* 426 – 430

Bittar E., Hift H., Huddart H., Tong E., 1974: The effects of caffeine on sodium transport, membrane potential, mechanical tension and ultrastructure in barnacle muscle fibres. *J Physiol.* 242(1):1-34.

da Silveira T.M.L., Tavares E., Gloria M.B.A., 2007: Profile and levels of bioactive amines in instant coffee *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 451–457

Fisone G, Borgkvist A, Usiello A. 2004: Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *„Cell Mol Life Sci”.* 61: 857–872

Froehner S., Scurupa K., Falcão F., Monnich C., Bessa M., 2010: Inputs of Domestic and Industrial Sewage in Upper Iguassu, Brazil Identified by Emerging Compounds

Guerold F., Vein D., Jacquemin G., 1991: Ephemeroptera, plecoptera, trichoptera communities of acidic and non acidic streams in the vosges mountains (northeastern France): a preliminary study. *Revue des sciences de l'eau*, 4: 299-314

Huddart H., Abram E., 1969: Localization of the intracellular site of action of caffeine on skeletal muscle. *Comp Bioch Physiol* 36, 4, 15 677-678

Moore M.T., Greenway A.S.L., Farris A.J.L., Guerra A.B., 2007: Assessing caffeine as an emerging environmental concern using conventional approaches. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54: 31–35

Sadow A., 1965: Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Pharmac. Rev.* 17: 265-320

Stańczykowska A. (red.), *Zwierzęta bezkręgowce naszych wód.* Warszawa. WSzIP 1979

Weber A., Herz, R. 1968: The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on the reticulum. *J. gen. Physiol.* 52: 750-759

3. Czy niecierpek gruczołowaty *Imaptiens glandulifera* konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?

Maciej Bonk¹, Katarzyna Chrzęścik², Joanna Kajzer³, Magdalena Mikowska⁴, Agata Pietrzyk⁵

¹Zakład Entomologii, Instytut Zoologii, UJ

²Zespół Fizjologii Ewolucyjnej, Instytut Nauk o Środowisku, UJ

³Zespół Ekologii Behawioralnej, Instytut Nauk o Środowisku, UJ

⁴Zespół Ekotoksykologii i Ekologii Stresu, Instytut Nauk o Środowisku, UJ

⁵Zespół Ochrony Przyrody, Badań Łowieckich i Edukacji Środowiskowej, Instytut Nauk o Środowisku, UJ



PROJEKT

Czy niecierpek gruczołowaty *Impatiens glandulifera* konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?

Wstęp

Spadek różnorodności gatunkowej roślin i zwierząt to globalny problem związany z zanikiem siedlisk. Na zanik bioróżnorodności mogą mieć wpływ również inne czynniki, jak np. inwazja gatunków introdukowanych. Inwazyjne gatunki obce IAS (ang. Invasive Alien Species) są jednym z głównych problemów współczesnej ekologii i ochrony przyrody (Parvez Rana i in., 2010). Ekspansja gatunków obcych może powodować znaczne zmiany w różnorodności biotycznej rodzimych organizmów powodując zaburzenia w funkcjonowaniu ekosystemów, co stanowi jedną z głównych przyczyn wymierania gatunków.

W ostatnich latach zwiększeniu uległ udział nieużytków, które w wielu przypadkach stają się wrotami inwazji gatunków obcych. Często gatunki obce, sprowadzone intencjonalnie lub zawleczone na konkretny teren, aklimatyzują się i rozprzestrzeniają na przyległych obszarach. W związku z tym, prowadzenie badań dotyczących wpływu IAS na rodzime gatunki staje się istotnym problemem. Gatunki inwazyjne prócz bezpośredniej konkurencji o siedlisko, konkurują z roślinami rodzimymi o owady zapylające. W konsekwencji może to spowodować całkowite wyparcie rodzimych gatunków roślin z ich siedlisk.

Niecierpek gruczołowaty (*Impatiens glandulifera*) (rodzina niecierpkowate) to roślina roczna o charakterystycznych różowych kwiatach, z grubą łodygą i liśćmi zebranymi w 3 okółki. Roślina ta preferuje tereny cieniste i wilgotne, brzegi wód, zarośla łęgowe. Do Polski sprowadzona została ze wschodnich Indii jako roślina ozdobna, początkowo obecna w ogródkach i zagrodach przydomowych. Obecnie jest gatunkiem całkowicie zaaklimatyzowanym, zajmującym siedliska innych roślin. Ponadto, jako roślina o wybujałej budowie i licznych kwiatach może konkurować z gatunkami rodzimymi o gatunki zapylające. Celem eksperymentu jest sprawdzenie, czy niecierpek gruczołowaty jest dla zapylaczy bardziej atrakcyjny niż podobne gatunki roślin tj. koniczyna i chaber. Spodziewamy się, że owady zapylające częściej wybierać będą niecierpka.

Materiały i metody

Eksperymentalnie zostanie sprawdzone czy niecierpek gruczołowaty jest preferowany przez różne gatunki zapylaczy. W odległości 30 cm od siebie zostaną ustawione dwa bukiety kwiatów: z niecierpkim oraz rośliną rodzimą w układach:

- a) niecierpek gruczołowaty i koniczyna *Trifolium pratense*
- b) niecierpek gruczołowaty i chaber *Centaurea jacea*

Każdy bukiet będzie miał średnicę ok. 20 cm. Kwiaty będą pozyskiwane losowo na łąkach w pobliżu stacji badawczej UJ. Wybór ww. gatunków roślin do eksperymentu jest uzasadniony ubarwieniem, które przypomina ubarwienie kwiatu niecierpka. Pozwoli to wykluczyć ewentualne różnice w percepcji gatunków zapylających (motyli, pszczołowatych oraz bzygów) różnych zabarwień kwiatów.

Dwuosobowy zespół będzie obserwował bukiety i odnotowywał każdy kontakt owada zapylającego z kwiatem. Oba układy eksperymentalne w warunkach bezdeszczowej pogody zostaną objęte trzema obserwacjami, po 30 minut każda.

Analizy statystyczne

Badaną zmienną będzie liczba kontaktów zapylaczy z kwiatami. Oba układy eksperymentalne zostaną zanalizowane przy pomocy testu chi kwadrat lub rozkładu dwumianowego w przypadku, gdy sumaryczna liczba kontaktów zapylaczy z danym gatunkiem będzie mniejsza lub równa 5.

Literatura

Parvez Rana, M., Shawkat Islam Sohel, M., Akhter, S. Study on the status and various uses of invasive alien plant species in a biodiversity hotspot zone. *International Journal of Ecology and Development* (2010) 15: 85-93.

Pysek P. Invasion dynamics of *Impatiens glandulifera* – a century of spreading reconstructed. *Biological Conservation* (1995) 74: 41-48.

Stichmann-Marny U., Kretschmer E., przy współpracy Stichmann W. Przewodnik; rośliny i zwierzęta. *Mutico*.

Szwedler I., Sobkowiak M. red. naukowy: Studnik-Wójcikowska B. Spotkania z przyrodą; Rośliny. *Mutico* (1998).

RAPORT WERSJA PIERWSZA

Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?

Abstrakt

Inwazyjne gatunki obce są ważnym czynnikiem wpływającym na spadek różnorodności biotycznej. Celem niniejszych badań było sprawdzenie, czy niecierpek gruczołowaty jest dla zapylaczy bardziej atrakcyjny niż wybrane rodzime gatunki roślin - koniczyna i chaber. Przeprowadzono dwa eksperymenty, zliczając każdorazowy kontakt zapylacza z kwiatami w bukietach. Wyniki wskazują, że zapylacze częściej wybierają niecierpka niż inne rośliny. Niecierpek, jako inwazyjny gatunek obcy, może być konkurencją i zagrożeniem dla roślin rodzimych gatunków.

Wstęp

Spadek różnorodności gatunkowej roślin i zwierząt to globalny problem związany z zanikiem i fragmentacją siedlisk. Na zanik bioróżnorodności mogą mieć wpływ również inne czynniki, jak np. inwazja gatunków introdukowanych i zawleczonych. Inwazyjne gatunki obce IAS (ang. Invasive Alien Species), są jednym z głównych problemów współczesnej ekologii i ochrony przyrody. Ekspansja gatunków obcych może powodować znaczne zmiany w różnorodności biotycznej rodzimych organizmów, powodując zaburzenia w funkcjonowaniu ekosystemów, co stanowi jedną z głównych przyczyn wymierania gatunków.

W ostatnich latach zwiększeniu uległ udział nieużytków, które w wielu przypadkach stają się wrotami inwazji gatunków obcych. Często gatunki obce, sprowadzone intencjonalnie lub zawlezione na konkretny teren, aklimatyzują się i rozprzestrzeniają na przyległych

obszarach. W związku z tym, prowadzenie badań dotyczących wpływu IAS na rodzime gatunki staje się problemem bardzo istotnym. Gatunki inwazyjne oprócz bezpośredniej konkurencji o siedlisko, konkurują z roślinami rodzimymi o owady zapylające, co w konsekwencji może spowodować znaczne wyparcie rodzimych gatunków roślin z ich siedlisk. Problem ten, dotyczący innego gatunku inwazyjnego był już podjęty. Wyniki tych badań wskazują, że gatunki inwazyjne skutecznie konkurują z rodzimymi o owady zapylające (Brown et al. 2002).

Niecierpek gruczołowaty *Impatiens glandulifera* (rodzina niecierpkowate) to roślina roczna o charakterystycznych różowych kwiatach, z grubą łodygą i liśćmi zebranymi w trzy okółki. Roślina ta preferuje tereny cieniste i wilgotne, brzegi wód, zarośla łąkowe (Stichmann-Marny i Kretschmer 2000, Szwedler i Sobkowiak 1998). Do Polski sprowadzona została ze wschodnich Indii jako roślina ozdobna, początkowo obecna w ogródkach i zagrodach przydomowych. Obecnie jest gatunkiem całkowicie zaaklimatyzowanym, zajmującym siedliska innych roślin. Ponadto, jako roślina o wybujałej budowie i licznych kwiatach może konkurować z gatunkami rodzimymi o gatunki zapylające. Celem eksperymentu było sprawdzenie, czy niecierpek gruczołowaty jest dla zapylaczy bardziej atrakcyjny niż podobne gatunki roślin tj. koniczyna i chaber. Spodziewano się, że owady zapylające częściej wybierają niecierpka.

Materiały i metody

Aby odpowiedzieć na pytania badawcze zaplanowano dwa eksperymenty, do których przygotowano dwa zestawy bukietów:

a) niecierpek gruczołowaty i koniczyna łąkowa *Trifolium pratense*

b) niecierpek gruczołowaty i chaber łąkowy *Centaurea jacea*

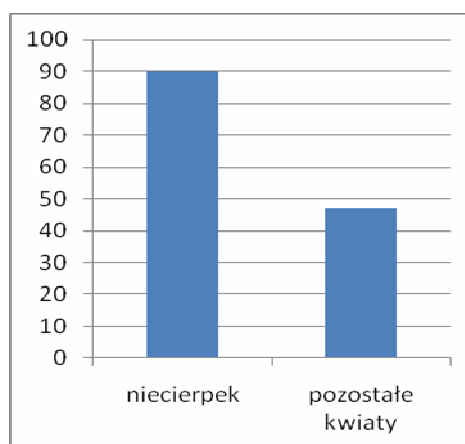
Kwiaty zebrano na łąkach w pobliżu stacji badawczej UJ (Ochotnica Górna 49,5218°N; 20,2185°E). Wybór ww. gatunków roślin do eksperymentu był uzasadniony przede wszystkim ubarwieniem, które przypomina ubarwienie kwiatu niecierpka. Pozwoliło to wykluczyć ewentualne różnice w percepcji gatunków zapylających (motyli, pszczołowych oraz bzygów) względem kwiatów o różnym zabarwieniu. Drugą przyczyną wyboru tych gatunków był fakt, że kwitną one we wrześniu w okolicach terenu badań. Każdy bukiet miał średnicę ok. 20 cm. Bukiety w każdym z zestawów eksperymentalnych zostały ustawione w odległości 30 cm od siebie. W trakcie obserwacji w obrębie par bukiety zamieniano miejscami tak, aby zminimalizować wpływ jak największej liczby czynników zewnętrznych (wiatru, odległości od skraju łąki itp.) na wybór rośliny przez owada. Pary bukietów ustawione były od siebie w odległości 1,5 do 2 m.

Eksperymenty wykonywane były przez dwuosobowe zespoły. Łącznie w ramach każdego eksperymentu przeprowadzono pięć półgodzinnych obserwacji. Pierwsza z nich została wykonana popołudniu 9.09.2010r. (temperatura powietrza ok. 19°C, średnie nasłonecznienie), a pozostałe kolejnego dnia w godzinach przedpołudniowych (temperatura powietrza ok. 15°C, duże zachmurzenie). Obserwacje przeprowadzono na dwóch stanowiskach – przy skalniaku obok Stacji UJ oraz na łące obok budynku Stacji. W trakcie eksperymentów odnotowywano każdy kontakt owada zapylającego z kwiatem (zliczano każde lądowanie owada na kwiecie). Oba układy eksperymentalne zostały zanalizowane przy pomocy testu chi kwadrat.

Wyniki

Wykonano analizę łącznej liczby kontaktów zapylacza z kwiatami niecierpka i z kwiatami dwóch pozostałych gatunków łącznie. Zapylnicze reprezentowane były przez pszczołę miodną (*Apis mellifera*), trzmiele, bzygowate oraz motyle. Dla niecierpka liczba kontaktów zapylacza wyniosła 90, a dla pozostałych kwiatów 47 (Ryc. 1). Wykazano statystycznie istotną różnicę ($p < 0,05$) pomiędzy liczbą kontaktów zapylacza z niecierpkim i innymi kwiatami.

Następnie analizowano preferencje zapylacza w dwóch układach eksperymentalnych. W układzie niecierpek-koniczyna odnotowano 39 kontaktów zapylacza z niecierpkim i 12 kontaktów z koniczyną. Różnica między liczbą lądowań na kwiatach niecierpka i koniczyny jest statystycznie istotna ($p < 0,05$). W układzie niecierpek-chaber zanotowano 51 kontaktów zapylacza z niecierpkim i 35 kontaktów zapylacza z chabrem. Nie wykazano tutaj statystycznie istotnej różnicy między liczbą lądowań na kwiatach poszczególnych gatunków roślin ($p = 0,14$).



Rycina 1. Liczba kontaktów zapylacza z kwiatami niecierpka i z kwiatami dwóch pozostałych gatunków.

Dyskusja

Wyniki badań wskazują, że niecierpek gruczołowaty jest rośliną bardziej preferowaną przez zapylacze niż rodzime gatunki. Rezultaty zgodne z oczekiwaniami ukazują, że introdukcja gatunków obcych jest istotnym problemem i realnym zagrożeniem oddziaływującym wielopłaszczyznowo na rodzimą florę. Znajduje to potwierdzenie w innych badaniach. Brown i in. (2002) wykazał bardzo podobne zjawisko między gatunkami *Lythrum salicaria* i *L. alatum*. Dowiódł, że u rodzimego gatunku *L. alatum* przy obecności *L. salicaria* notuje się mniej wizyt zapylaczy, a także mniejszą produkcję nasion. Otrzymane wyniki potwierdzają, że niecierpek gruczołowaty, jako inwazyjny gatunek obcy, może być konkurencją i zagrożeniem dla roślin rodzimych gatunków. Nie tylko jest to gatunek, który tworzy zwartą pokrywą zajmując siedlisko, przestrzeń i hamując dostęp światła innym roślinom, lecz także konkuruje z nimi o owady zapylające.

W układzie eksperymentalnym chaber – niecierpek nie wykazano istotnych statystycznie różnic. O takim rezultacie decydować może wybiórczość niektórych owadów zapylających oraz mało liczna próba, która nie pozwoliła na zweryfikowanie wpływu tej wybiórczości. Zastosowana metodyka badań narzuciła z jednej strony pewne ograniczenia, z drugiej natomiast pozwoliła zrealizować zaplanowane eksperymenty w krótkim czasie i w stosunkowo mało sprzyjających warunkach pogodowych. Zdecydowano się na zliczanie

każdego kontaktu owada z kwiatem w bukiecie, bez znakowania owadów lub ich odławiania, ponieważ liczba owadów zapylających w okolicy Stacji UJ była niewielka i każdy zbliżający się do układów eksperymentalnych owad był ważny dla powodzenia eksperymentu. W eksperymencie o większej próbie i długim czasie obserwacji powinno się raczej określać sukces rozrodczy porównywanych roślin i na tej podstawie (przy kontrolowaniu innych czynników) wnioskować o preferencjach zapylaczy (Brown et al. 2002).

Ograniczeniem w wysnuwaniu wniosków z przeprowadzonych obserwacji jest prawdopodobny wpływ pojedynczych osobników zapylaczy na ilość zliczeń. Ze względu na warunki pogodowe, liczba zapylaczy była niewielka i zdarzało się, że jeden owad miał kontakt z kilkoma kwiatami w bukiecie. Drugim istotnym ograniczeniem jest fakt, że stworzone warunki eksperymentalne nie odzwierciedlały naturalnego zagęszczenia roślin ani ich rozmieszczenia względem siebie. Na taki zabieg zdecydowano się celowo, aby stworzyć sytuację nadmiaru „zasobu”, jakim były kwiaty (by przywabić zapylacze do układu eksperymentalnego). Ponadto umożliwiło to sprawne i rzetelne przeprowadzenie eksperymentów przez dwuosobowe zespoły.

W praktyce mogłoby również okazać się, iż niebezpieczeństwo ze strony gatunków inwazyjnych jest tylko pozorne, gdyż okres kwitnienia poszczególnych gatunków może na siebie nie nachodzić. Tę hipotezę jednak odrzucamy, gdyż długi okres kwitnienia niecierpka (maj-wrzesień) obejmuje okres kwitnienia pozostałych badanych roślin.

Powyższe wyniki badań potwierdzają konieczność zwalczania inwazyjnych gatunków obcych w celu ochrony różnorodności biologicznej oraz konieczność prowadzenia dalszych badań nad innymi gatunkami inwazyjnymi mogącymi konkurować z rodzimą florą. Zwłaszcza w kontekście zmniejszającej się obecnie populacji pszczół miodnych i innych pszczołowatych, które odgrywają decydującą rolę w zapylaniu roślin (vanEngelsdorp i Meixner 2009), problem badania roślin inwazyjnych staje się szczególnie ważny. Badania takie powinny być jednakże prowadzone na większą skalę niż tutaj opisywane. Jacobsson (2009) sugeruje, że badania takie prowadzone w małej skali skutkują przeszacowaniem negatywnego wpływu roślin inwazyjnych, co mogło mieć miejsce także w opisywanych tutaj badaniach.

Literatura

Brown B.J., Randall J. M., Graham S.A. 2002. Competition for pollination between an invasive species (purple loosestrife) and a native congener, *Ecology* 83:2328–2336.

Jakobsson A., Padrón B., Traveset A..2009. Competition for Pollinators between Invasive and Native Plants: Effects of Spatial Scale of Investigation, *Ecoscience* 16(1):138-141

Stichmann-Marny U., Kretschmer E..2000. Przewodnik; rośliny i zwierzęta. *Mutico*.

Szwedler I., Sobkowiak M. 1998. W: Studnik-Wójcikowska B.(red.) Spotkania z przyrodą; Rośliny. *Mutico*

VanEngelsdorp D., Meixner M.D. 2009. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them, *Journal of Invertebrate Pathology (in press)*

RECENZJE**Adam Łomnicki****Recenzja raportu: „Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?”**

W tym raporcie niejasny jest opis metody. Nie dowiedziałem się ile było par bukietów z jednego zestawu np. chaber – niecierpek. Nie wiadomo też czy obserwacje powtarzano w innym czasie na tych samych parach bukietów czy na innych. Jeśli na tych samych i było kilka par to mamy analizę wariancji klasyfikacja podwójna bez powtórzeń dla każdej z par. Ale tego nie wiemy. Dlaczego nie zrobiono porównania koniczyna i chaber ? Może zawsze przy dwóch bukietach są duże różnice. Może różnice byłyby jeszcze większe niż z niecierpkami, a jeśli nie to wówczas mamy silniejszy argument, że niecierpek jest zagrożeniem. Danych oryginalnych (liczby przylotów) nie było tak dużo, aby nie przestawić ich w tabeli przy opisie Wyników.

Jeśli robi się jakiś test (tu robiono testy chi kwadrat) to nie wystarczy podać p , trzeba podać statystykę chi i coś więcej napisać, bo nie wiadomo czy był to test zgodności czy badania związku.. Jeśli test zgodności to zapewne założono, że do obu bukietów będzie przybywać ta sama liczba osobników. To trzeba było napisać.

Ale to nie wszystko. Nawet gdyby ten sam osobnik nie przybywał kilkakrotnie lub nawet dwukrotnie do bukietu, to chi kwadrat budzi wątpliwości, bo nie wiadomo czy lot jednego owada do bukietu nie skłania innego owada do lotu za nim lub do rezygnacji z tego bukietu. A wówczas nie jest spełniony warunek niezależności, bo każda taka obserwacja to powinna być niezależna próba losowa. A jeśli ten sam owad przylatuje dwukrotnie lub więcej razy to na pewno warunek niezależności nie jest spełniony. Wynika z tego, że testu chi kwadrat ani testów dla proporcji nie można tutaj stosować. A w ogóle, wbrew zasadom statystyki jest łączenie dwóch prób i podsumowanie, że niecierpek jest lepszy, bo gdyby układ niecierpek-chaber dawał 58-5, a niecierpek-koniczyna 26-24, to sumowanie tego na niecierpek-inny 84-26 jest wciskanie ludziom ciemnoty.

A ponieważ testu chi kwadrat nie można stosować to trzeba stosować analizę wariancji i obliczać osobno dla chabru i osobno dla koniczyny różnice między liczbą owadów przybywających do niecierpka i do tego drugiego. Można też liczyć razem, ale z tego może dojść klasyfikacja poczwórna bez powtórzeń. Proponuje zatem dwie liczby przybywających do bukietu w danym czasie i w danym bukiecie w każdej parze, jeśli jest kilka par i kilka czasów dla pary to analiza wariancji klasyfikacja potrójna, a jeśli po jednej parze to podwójna. Może z tego nic nie wyjść, ale lepiej powiedzieć, że niczego nie dało się dowiedzieć, bo za mało prób niż robić dziadostwo.

A poza tym. Chyba nie pisze się bzygi tylko bzygowate (str.2). Maszynopisy pisze się z podwójną interlinią i z numerami stron. Należy unikać kolorowych rycin, jeśli nie są konieczne. Symbole matematyczne na przykład p (prawdopodobieństwo błędu I rodzaju) pisze się kursywą. Nazwy czasopism lub książek pisze się kursywą a dla książek podaje się nie tylko wydawcę, ale i rok wydania. Przy czasopismach nawiasie numer zeszytu pisze się tylko wówczas, gdy każdy zeszyt ma swą własną numerację stron, ale to zdarza się rzadko, numeracja jest zwykle dla całego tomu. To są takie zasady, które świadczą o profesjonalności. Powinni tego uczyć przy pisaniu pracy magisterskiej.

Adam Łomnicki
naturalnej wielkości profesor

Emilia Grzędzicka

Recenzja raportu: „Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?”

Autorzy w swoim raporcie chcieli wykazać, że niecierpek gruczołowaty, jako roślina obca w Polsce i rozprzestrzeniająca się inwazyjnie, stanowi zagrożenie dla naszych rodzimych gatunków z racji konkurowania z nimi o owady zapylające. Jest to bardzo ważne zagadnienie, które warto badać, ale projekt niestety nie do końca mnie o tym przekonuje.

Ogólnie tekst czyta się dobrze, jest logiczny, chociaż pod kilkoma względami wymaga uzupełnień merytorycznych. Po pierwsze, nie jest do końca wyjaśnione dlaczego konkurencja o zapylacze jest zagrożeniem dla rodzimych gatunków roślin. Warto posłużyć się paroma cytacjami i na konkretnych przykładach podać czym kierują się owady wybierając kwiaty roślin do zapylenia. A może chodziło raczej o konkurencję o siedliska, na których żerują owady? Moim zdaniem, autorzy nie zauważyli również, że problem ma dwa poziomy: z jednej strony niecierpek jest zagrożeniem dla rodzimych gatunków roślin, chociaż chaber i koniczyna do zagrożonych w kraju nie należą. Co innego ze storczykami, np. czerwonymi stoplankami – niższymi od niecierpka, o mniej atrakcyjnym wyglądzie. Z tekstu nie wynika jednak czy to konkurencja o przestrzeń, czy o coraz mniej liczne zapylacze? ALE: zagrożone są również zapylacze – jak wyjaśnić entuzjastycznie ginących trzmieli i pszczół, że powinno im się zabronić przylatywania do niecierpka, który przecież stanowi dla nich potencjalne źródło nektaru?

Nie rozumiem skąd przekonanie, że nieużytki są wrotami dla gatunków obcych, może przekonałoby mnie kilka cytacji. Czy to nie przypadkiem wymyślne ogrody nie są kosmicznymi wrotami dla natarcia obcych? Według moich obserwacji, niecierpek owszem występuje na przydrożach, ale również wzdłuż rzek – i to z takich miejsc zwykle przenosi się masowo na łąki. Co do metodyki, mam dwa pytania: jakiego koloru były ubrania obserwatorów, oraz czy ktoś przypadkiem nie użył perfum? Na ile zapylacze kierują się zapachem? Statystyka: test chi-kwadrat jest testem frekwencji i z założenia nie służy do mierzenia różnic, do tego nadaje się test t-studenta. Nie jest napisane, jakich wartości oczekiwano i jaka była hipoteza zerowa. Wystarczyło jednak napisać, że założeniem 0 był brak różnic między liczbą przylotów zapylaczy pomiędzy niecierpkiem, a innymi roślinami. Nie znalazłam jakiego poziomu istotności użyto: czy 0,05?

W dyskusji zabrakło mi kilku elementów: po pierwsze niecierpek ma inną budowę kwiatów niż chaber – z rodziny astrowatych, oraz koniczyna – z rodziny bobowatych. Czy nie przetestowano przypadkiem preferencji zapylaczy do typów kwiatów? Co więcej, warto uzupełnić aspekty środowiskowe: koniczyna czerwona i chaber łąkowy są wskaźnikami łąk *Molinio-Arrhenatheretea*, a niecierpek występuje głównie na przydrożach i wzdłuż rzek. Cennym byłoby przetestowanie stopnia wykluczania się środowiskowego niecierpka i roślin łąkowych. Chociaż niecierpek wchodzi również na łąki, problem może zwyczajnie być nieco inny: oba typy roślin konkurują ze sobą o siedlisko (łąka jest żyźniejsza), na którym przypadkiem żerują zapylacze. Nie konkurują jednak o same zapylacze (trochę się czepiam). Inna uwaga: jako przykład porównawczy nie podawałbym krwawnicy pospolitej (a propos – czemu autorzy używają tylko nazwy łacińskiej: *Lythrum salicaria*?), która póki co jest rośliną ekspansywną, a nie inwazyjną. Rośliny inwazyjne to gatunki, które nie tyle szybko się rozprzestrzeniają, ale naprawdę stanowią problem, jak barszcz Sosnowskiego, czy żółto kwitnąca nawłóć kanadyjska *Solidago canadensis*. Przykład artykułu o konkurencji inwazyjnej nawłóci kanadyjskiej z rodzimymi gatunkami roślin: Huang et al. 2007. *Reproductive biology in an invasive plant Solidago canadensis*. Warto przeczytać też pracę o

wpływie inwazyjnej nawłoci na motyle: de Groot. 2003. *Insect responses to invasive plant species- a case study in the Ljubljana*.

Podsumowując, poruszony problem jest naprawdę ważny, a sam temat podoba mi się najbardziej ze wszystkich czterech, trzeba go tylko dopracować. Rozumiem, że ewentualnym efektem badań byłby projekt czynnej ochrony – tylko nie wiem co autorzy chcą chronić przed niecierpkim? Zapyłacz, czy łąki? Niemniej jednak już dziś zgłaszam się na wolontariusza do koszenia lub wypasu krów na niecierpku.

Filip Kapustka

Recenzja raportu: „Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?”

1. Tekst jest zwięzły, treściwy, logiczny i zawiera wszystkie niezbędne elementy projektu. Miejscami widać, że był przygotowywany w krótkim czasie i na niektóre edytorskie aspekty nie zwrócono uwagi (np. tabulatory na początku akapitu), nie mniej nie przeszkadzają one w czytaniu.
2. Temat nie do końca odpowiada temu na jakie pytanie odpowiedział eksperyment. Czy sam fakt odwiedzania go i pożywania się jego nektarem/pyłkiem przez zapyłacz nie jest wystarczająco silnym dowodem, że jest on konkurencją dla innych kwiatów (nie tylko rodzimych)?
3. Metody (str2, wers 15-18). Czy wiemy, że niecierpek jest konkurencją do kwiatów o tym samym (podobnym) kolorze, a nie jest konkurencją dla innych kolorów? Być może jest większą konkurencją dla kwiatów o podobnej morfologii ale zupełnie innym kolorze lub dla kwiatów o innym kolorze i innej morfologii? Czy nie należałoby przeprowadzić także takich porównań? Zapyłaczem jest m.in. pszczoła miodna, która wcale nie preferuje kwiatów o konkretnym kolorze, nieprawdaż?
4. Metody (str2, wers 20-25). Jaki był dokładny skład bukietów? A dokładniej: ile było kwiatów jednego i drugiego gatunku, czy powierzchnia kwiatów była podobna? Czy nie było by bardziej prawidłowo zamiast bukietów tworzyć pary „jeden na jeden” tych gatunków i liczyć jak wygląda bezpośrednia rywalizacja o zapyłacz? Dzięki temu zwiększyła by się też liczba układów eksperymentalnych.
5. Metody (str2, wers 24). Czym jest dla Was „układ eksperymentalny”?
6. Wyniki. (str 3) Czy były istotne różnice w odwiedzinach między bukietami o różnym składzie gatunkowym?
7. Metody (str3, wers 2). Czy lądowanie które nie prowadzi do penetracji kielicha kwiatowego jest równoważne takiemu z penetracją, opróżnieniem i zabraniem pyłku?
8. Rycina, która jest w tym projekcie nie jest w ogóle potrzebna w takim kształcie i formie. Nie wiadomo dlaczego są tylko dla jednej pary kwiatów, czy te słupki są istotne, a dla porównania dwóch liczb nie trzeba rysować wykresu.

- Większość nurtujących pytań powstałych w trakcie czytania projektu została rozwiana w rzetelnej i przemyślanej dyskusji. Odpowiedziano też w niej na pytanie główne tej pracy.

Michał Kuciel

Recenzja raportu: „Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?”

Autorzy podjęli próbę określenia, czy niecierpek gruczołowaty jest dla zapylaczy bardziej atrakcyjny niż gatunki roślin rodzimych o kwiatach podobnej barwy.

Temat pracy jest jasny i zrozumiały, chociaż należałoby już w temacie podać łacińską nazwę gatunkową niecierpka. Wstęp jest przejrzysty i jasno dąży do celu pracy oraz stawianych problemów badawczych, nie brakuje argumentacji za podjęciem tego typu badań. Tekst jest napisany poprawnie pod względem stylistycznym i edytorskim. Opracowanie jest ciekawe, zawiera prostą i jasną analizę statystyczną.

Moją poważną wątpliwość budzi kryterium wyboru gatunków do eksperymentu, czyli barwa kwiatów na podstawie oceny wzrokowej badaczy. Wiadomo, że zwierzęta i w tym również owady dostrzegają inną niż człowiek część widma światła, dlatego wcale nie musi być tak, że ludzkie postrzeganie barwy np. niecierpka i chabra lub koniczyny będzie takie samo jak owadzie. To może mieć zasadniczy wpływ na wynik pomiarów.

Nie napisano, czy miały miejsce i ewentualnie jak traktowano odwiedziny najpierw jednego bukietu a potem drugiego. Owady np. na łące odwiedzają kolejno kwiaty różnych gatunków roślin, być może taka sytuacja miała miejsce również podczas trwania eksperymentu.

Pomimo pewnych uchybień uważam, że recenzowany aktualnie projekt jest bardzo interesujący, wykonany starannie i rzetelnie.

Justyna Morawska-Płoskonka

Recenzja raportu: „Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?”

Raport ma pełną konstrukcję o ścisłym abstrakcie i dobrze rozwiniętym wstępie. Problem badawczy i cel pracy jest wyłożony klarownie, choć we wstępie pojawiają się sformułowania niejasne, np. „Problem ten, dotyczący innego gatunku inwazyjnego był już podjęty.”. Autorzy na początku wstępu wspominają o gatunkach inwazyjnych nie wskazując jaki dokładnie gatunek mają na myśli, by w zdaniu: „Gatunki inwazyjne oprócz bezpośredniej konkurencji o siedlisko, konkurują z roślinami rodzimymi o owady zapylające, co w konsekwencji może spowodować znaczne wyparcie rodzimych gatunków roślin z ich siedlisk.” gwałtownie przeskoczyć do roślin.

Metodyka badań opisana jest w sposób dokładny, choć pomysł zamiany bukietów stojących w odległości 30 cm od siebie, by minimalizować wpływ czynników zewnętrznych takich jak wiatr czy odległości od skraju łąki (czynniki przytoczone przez autorów) ma chyba małe znaczenie. 30 cm to za mała odległość by ich zamiana mogła odegrać jakieś znaczenie w odległości od lasu! Zważywszy, że pomiary wykonywane były w okolicy stacji. Podobnie sposób zliczania kontaktu owada z kwiatem mógł być obarczony błędem pseudoreplikacji. Autorzy nie wyjaśnili, dlaczego zdecydowali się na test chi-kwadrat. „Popołudniu” w kontekście zastosowanym przez autorów pisze się oddzielnie. Rycina 1 ma różny opis w tekście i pod obrazkiem. Wyniki są przedstawione klarownie tak jak wywód dyskusji. Autorzy trafnie dobrali literaturę, choć 2 pierwsze pozycje w punkcie „Literatura” powinny być oddzielone.

Anna Wandycz

Recenzja raportu: „Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?”

Projekt jest interesujący, i dobrze zaplanowany. Autorzy planując eksperyment wzięli pod uwagę wiele czynników, które mogły mieć wpływ na zafałszowanie wyników i wykorzystali je przy jego realizacji. Wyniki są dobrze zinterpretowane. Dyskusja jest wyczerpująca, bardzo dobrze, że pojawił się problem przeszacowywania negatywnego wpływu gatunków inwazyjnych na gatunki rodzime. Raport czyta się bardzo szybko, nie zauważyłam błędów edytorskich, aczkolwiek można poprzehaczyć „sieroty” do następnego wiersza. W tytule sugeruję podać nazwę łacińską niecierpka.

Karolina Węcek

Recenzja raportu: Czy niecierpek gruczołowaty konkuruje z rodzimymi gatunkami roślin o owady zapylające?

Projekt oceniam bardzo pozytywnie. Tematyka jest interesująca, a cały raport czyta się lekko i przyjemnie. Raport jest skonstruowany klasycznie, składa się z 5 części, nie przytłacza nadmiarem wykresów i tabel. Niewątpliwą zaletą projektu jest łatwość jego realizacji. Wysoką ocenę daję Autorom za pomysłowość. Dodatkową zaletą projektu jest praktyczne zastosowanie uzyskanych wyników. Metodyka pracy jest dobra. Klarownie opisano sposób rozmieszczenia układów eksperymentalnych. Autorzy starali się zminimalizować wpływ czynników zewnętrznych na badane obiekty, aby uzyskać jak najbardziej wiarygodne wyniki. Uważam jednak, że należało też przebadać układ: koniczyna łąkowa-chaber łąkowy. Mam też drobną uwagę stylistyczną, sugerowałabym napisać zamiast „ilość zliczeń” „liczbę zliczeń”. Ogólnie pracę oceniam jako bardzo dobrą.

RAPORT WERSJA OSTATECZNA

Czy niecierpek gruczołowaty (*Impatiens glandulifera*) konkuruje z chabrem (*Centaurea jacea*) i koniczyną (*Trifolium pratense*) o owady zapylające?

Abstrakt

Inwazyjne gatunki obce są ważnym czynnikiem wpływającym na spadek różnorodności biologicznej. Niecierpek gruczołowaty jako inwazyjny gatunek obcy jest zagrożeniem dla rodzimych gatunków roślin. Celem niniejszych badań było sprawdzenie, czy niecierpek gruczołowaty jest częściej odwiedzany przez owady zapylające niż wybrane rodzime gatunki roślin - koniczyna polna i chaber łąkowy. Przeprowadzono dwa eksperymenty, które polegały na zliczaniu każdorazowego kontaktu zapylacza z rośliną inwazyjną vs. rodzimą. Zapylacze istotnie częściej siadały na niecierpku niż koniczynie. Natomiast nie wykazano istotnych różnic w układzie eksperymentalnym niecierpek – chaber.

Wstęp

Na zanik bioróżnorodności mogą mieć wpływ różne czynniki, jak np. inwazja gatunków introdukowanych i zawleczonych. Inwazyjne gatunki obce, IAS (ang. Invasive Alien Species), są jednym z głównych problemów współczesnej ekologii i ochrony przyrody.

Ekspansja gatunków obcych może powodować znaczne zmiany w różnorodności biotycznej rodzimych organizmów, powodując zaburzenia w funkcjonowaniu ekosystemów, co stanowi jedną z głównych przyczyn wymierania gatunków.

Często gatunki obce, sprowadzone w sposób zamierzony lub zawlezione, aklimatyzują się i rozprzestrzeniają na nowych obszarach. W związku z tym, prowadzenie badań dotyczących wpływu IAS na rodzime gatunki jest kwestią bardzo istotną. Inwazyjne gatunki roślin, oprócz bezpośredniej konkurencji o siedlisko, konkurują z roślinami rodzimymi o owady zapylające, co w konsekwencji może spowodować wypieranie rodzimych gatunków roślin z ich siedlisk. Wyniki badań wskazują, że gatunki inwazyjne skutecznie konkurują z rodzimymi o owady zapylające (Brown et al. 2002). Problem badania roślin inwazyjnych staje się ważny również w kontekście zmniejszającej się obecnie liczebności pszczołowych, które odgrywają decydującą rolę w zapylaniu roślin (VanEngelsdorp i Meixner 2009).

Niecierpek gruczołowy *Impatiens glandulifera* to roślina roczna o charakterystycznych różowych kwiatach i grubej wysokiej łodydze. Do Polski sprowadzona została ze wschodnich Indii jako roślina ozdobna, początkowo obecna w ogródkach i zagrodach przydomowych. Obecnie jest gatunkiem całkowicie zaaklimatyzowanym, zajmującym siedliska innych roślin. Roślina ta preferuje tereny cieniste i wilgotne, brzegi wód, zarośla łąkowe (Stichmann-Marny i Kretschmer 2000, Szwedler i Sobkowiak 1998), coraz częściej porasta też gęstymi łanami zbiorowiska łąkowe (obserwacje własne). Oprócz zajmowania siedlisk, jako roślina o wybujałej budowie i licznych kwiatach może konkurować z rodzimymi roślinami o gatunki zapylające.

Celem badań było sprawdzenie, czy niecierpek gruczołowy jest dla zapylaczy bardziej atrakcyjny niż koniczyna polna i chaber łąkowy.

Materiały i metody

Aby odpowiedzieć na pytania badawcze zaplanowano dwa eksperymenty:

Eksperyment 1:

W odległości 30 cm od siebie zostały ustawione bukiet niecierpków i bukiet chabrów (*Centaurea jacea*), oba o średnicy ok. 20 cm.

Eksperyment 2:

W odległości 30 cm od siebie zostały ustawione bukiet niecierpków i bukiet koniczyny (*Trifolium pratense*), oba o średnicy ok. 20 cm.

Wybór gatunków roślin do eksperymentu był uzasadniony dostępnością roślin kwitnących w czasie prowadzenia badań. Każdy eksperyment wykonano na jednej parze bukietów. Kwiaty zebrano na łąkach w pobliżu stacji badawczej UJ (Ochotnica Górna 49,5218°N; 20,2185°E). Obserwacje prowadzono po południu 9.09.2010 (temperatura powietrza ok. 19°C, średnie nasłonecznienie) i przed południem 10.09.2010 (temperatura powietrza ok. 15°C, duże zachmurzenie). Łącznie w ramach każdego eksperymentu obserwacje prowadzono dwie i pół godziny.

Eksperymenty wykonywane były przez dwuosobowe zespoły. Obserwacje przeprowadzono na dwóch stanowiskach – w ogródku Stacji UJ oraz na łące obok budynku Stacji. W obrębie każdego układu eksperymentalnego bukiety zamieniano miejscami, aby zminimalizować wpływ czynników zewnętrznych (wiatru, odległości od skraju łąki itp.) na wybór rośliny przez owada. Eksperymenty realizowane były równocześnie, w odległości 1,5 – 2 metrów od siebie.

W trakcie eksperymentów odnotowywano każdy kontakt owada zapylającego (pszczołowate, bzygowate, motyle) z kwiatem/kwiatostanem. Założono, że każdorazowa decyzja o wyborze kwiatu jest niezależna.

Uzyskane dane zostały zanalizowane przy pomocy testu zgodności chi kwadrat. Przyjęto poziom istotności $p=0,05$. Założono, że do obu bukietów będzie przylatywać równa liczba zapylaczy.

Wyniki

W układzie niecierpek-chaber (Eksperyment 1) odnotowano 51 kontaktów zapylacza z niecierpkim i 35 kontaktów zapylacza z chabrem (Tab. 1). Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w liczbie kontaktów zapylaczy między gatunkami roślin ($df=1$, $\chi^2 = 2,98$, $p=0,14$).

W układzie niecierpek-koniczyna (Eksperyment 2) odnotowano 39 kontaktów zapylacza z niecierpkim i 12 kontaktów z koniczyną. Różnica w liczbie kontaktów między gatunkami roślin była statystycznie istotna ($df=1$, $\chi^2 = 14,29$, $p<0,05$).

Tabela 1. Liczba kontaktów zapylaczy z poszczególnymi bukietami w łącznym czasie obserwacji.

	Eksperyment 1		Eksperyment 2	
	niecierpek	chaber	niecierpek	koniczyna
Liczba kontaktów	51	35	39	12

Dyskusja

Wybór materiału i metod

Niecierpek preferuje miejsca wilgotne i zacienione, ale występuje też na łąkach (obserwacje własne), zatem jest potencjalnym konkurentem dla roślin wybranych do eksperymentu. Stworzone warunki eksperymentalne nie odzwierciedlały naturalnego zagęszczenia roślin ani ich rozmieszczenia względem siebie. Na taki zabieg zdecydowano się, aby stworzyć sytuację nadmiaru zasobu, jakim były kwiaty (by przywabić zapylacze do układu eksperymentalnego). Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów nie można jednak wyciągnąć mocnych wniosków, co wynika z ograniczeń zastosowanej metodyki. Należą do nich: brak powtórzeń w układach eksperymentalnych, złe warunki atmosferyczne i związana z tym mała liczba owadów, brak kontroli nad niezależnością próby – ten sam osobnik mógł wielokrotnie odwiedzać jeden kwiat/kwiatostan/bukiet (w związku z tym wyniki eksperymentów mogły być efektem preferencji osobniczych a nie ogółu zapylaczy). Jacobsson (2009) sugeruje ponadto, że badania prowadzone w małej skali skutkują przeszacowaniem negatywnego wpływu roślin inwazyjnych, co mogło mieć miejsce także w opisywanych tutaj badaniach.

Dyskusja wyników

Wyniki badań nie wskazują jednoznacznie na to, czy niecierpek jest rośliną bardziej preferowaną przez zapylacze niż chaber i koniczyna. W układzie eksperymentalnym chaber – niecierpek (Eksperyment 1) nie wykazano istotnych różnic w wyborze kwiatów przez zapylacze. Może to wynikać z braku wyraźnych preferencji owadów zapylających względem badanych gatunków. W układzie koniczyna – niecierpek (Eksperyment 2) zapylacze częściej odwiedzały niecierpka niż roślinę rodzimą. Wynik ten sugeruje, że niecierpek gruczołowaty może być bardziej atrakcyjny dla zapylaczy niż niektóre gatunki roślin rodzimych. Podobne zjawisko wykazał Brown i współpracownicy (2002) w przypadku pary gatunków z rodzaju *Lythrum*. Dowiedli oni, że w Stanach Zjednoczonych u rodzimego gatunku *L. alatum* w

obecności inwazyjnego *L. salicaria* notuje się mniej wizyt zapylaczy, a także mniejszą produkcję nasion.

Badania nad omawianym zagadnieniem wymagają rozszerzenia na konkretne zbiorowiska roślinne (np. łąki łąn). Ponadto, ważną miarą wpływu gatunków inwazyjnych na rodzime rośliny jest liczba wyprodukowanych nasion. W związku z tym należy prowadzić badania nad liczbą nasion wyprodukowanych przez rośliny rodzime w obecności gatunków obcych (Brown i in. 2002).

Literatura

Brown B.J., Randall J. M., Graham S.A. 2002. Competition for pollination between an invasive species (purple loosestrife) and a native congener, *Ecology* 83: 2328–2336.

Jakobsson A., Padrón B., Traveset A..2009. Competition for Pollinators between Invasive and Native Plants: Effects of Spatial Scale of Investigation, *Ecoscience* 16: 138-141.

Stichmann-Marny U., Kretschmer E..2000. Przewodnik; rośliny i zwierzęta. Multico.

Szwedler I., Sobkowiak M. 1998. W: Studnik-Wójcikowska B.(red.) Spotkania z przyrodą; Rośliny. Mulico.

VanEngelsdorp D., Meixner M.D. 2009. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them, *Journal of Invertebrate Pathology* (in press).

4. Czy istnieje dymorfizm płciowy w plamistości salamandry?

Maciej Bonk¹, Katarzyna Chrzęścik², Joanna Kajzer³, Magdalena Mikowska⁴, Agata Pietrzyk⁵

¹Zakład Entomologii, Instytut Zoologii, UJ

²Zespół Fizjologii Ewolucyjnej, Instytut Nauk o Środowisku, UJ

³Zespół Ekologii Behawioralnej, Instytut Nauk o Środowisku, UJ

⁴Zespół Ekotoksykologii i Ekologii Stresu, Instytut Nauk o Środowisku, UJ

⁵Zespół Ochrony Przyrody, Badań Łowieckich i Edukacji Środowiskowej, Instytut Nauk o Środowisku, UJ



PROJEKT

Czy istnieje dymorfizm płciowy w plamistości salamandry?

Wstęp

Jednym z sygnałów świadczących o jakości osobnika może być jego ubarwienie. Wśród zwierząt sygnałem świadczącym o dobrej jakości osobników są barwy pochodzenia karotenoidowego (żółte, czerwone, pomarańczowe). U dorosłych osobników obecność ornamentów „karotenoidowych” uwarunkowana jest głównie poprzez umiejętność zdobycia odpowiedniego, pokarmu, występującego w ograniczonej ilości, w mniejszym zaś stopniu zdeterminowana jest na etapie rozwoju zarodkowego. Im więcej lub im żywsze są barwy żółte, pomarańczowe i czerwone, tym lepiej osobnik je posiadający radzi sobie w środowisku. Równocześnie jest bardziej atrakcyjnym kandydatem do rozrodu, ponieważ zwiększa szansę posiadania potomstwa o większych szansach przeżycia i rozmnożenia się.

Wybiórczość samic względem ubarwienia przeprowadzono na ptakach (np. Badyaev i Hill 2000). Niewiele jest natomiast prac poświęconych temu zagadnieniu u płazów (Doucet i Mennill 2010). U wielu gatunków płazów, w tym występujących w Europie, przy wyborze partnera samica może kierować się m.in. ubarwieniem samców. Wybór może mieć dwojakie podłoże, samce niektórych gatunków wytwarzają szatę godową tylko na okres godów (np. żaba jeziorkowa *Pelophylax lessonae*), podkreślając swoją jakość, inne natomiast charakteryzują się niezmiennym ubarwieniem w ciągu sezonu wegetacyjnego. W drugim przypadku ubarwienie nie jest na ogół jedynie ornamentem, lecz pełni inne funkcje. U salamandry *Salamandra salamandra* obecność żółtych plam na czarnym tle pełni funkcję odstraszącą drapieżniki (ubarwienie aposematyczne), jak również maskującą (żółte plamy na czarnym ciele mimo dużego kontrastu sprawiają, że osobniki są słabo widoczne, szczególnie w miejscach zacienionych). Można przypuszczać, że podczas rozrodu samice są w pewnym stopniu wybiórcze i mogą preferować samce z większym udziałem koloru żółtego. Może to być związane z różnicami w ilości żółtego barwnika w skórze w zależności od płci osobnika. Celem naszego projektu jest zbadanie, czy istnieje różnica w ubarwieniu „karotenoidowym” pomiędzy samcami a samicami u salamandry plamistej. Przewidujemy, że powierzchnia żółtych plam u samców jest większa niż u samic. Ponadto, osobniki o większym udziale ubarwienia „karotenoidowego” powinny charakteryzować się lepszą kondycją mierzoną jako Body Condition Index (BCI).

Materiały i metody

Obiektem badań będzie salamandra plamista *Salamandra salamandra*. Osobniki tego gatunku zostaną schwytane w okolicy Stacji Terenowej UJ w Ochotnicy Górnej po zapadnięciu zmroku. Każdy osobnik zostanie sfotografowany, określona zostanie także jego płeć na podstawie budowy kloaki (Juszczak 1987), masa oraz długość ciała. Następnie zostanie wykonana analiza fotografii badanych osobników przy pomocy programu ImageJ (www.rsbweb.nih.gov/ij/download.html) w celu obliczenia powierzchni żółtych plam na grzbiecie każdego osobnika.

Pomiary długości ciała od końca pyska do końca kloaki SVL (ang. snout vent length) zostaną wykonane suwmiarką Digital Caliper z dokładnością do 1 mm, natomiast pomiar masy zostanie wykonany przy użyciu wagi ENVAG KERN 60-2N z dokładnością do 0,01g.

Analiza statystyczna

Różnice między płciami

Dla sprawdzenia hipotezy o braku różnic pomiędzy powierzchnią plam żółtych na grzbiecie salamandry a płcią osobnika zostanie wykonana dwuczynnikowa ANOVA. Zmienną zależną będzie powierzchnia plam żółtych, natomiast zmienne niezależne to: płeć (dwa poziomy: samce i samice), długość ciała (SVL) oraz interakcja obu czynników.

Body Condition Index

BCI zostanie obliczone na podstawie masy oraz długości osobników według Jehle i Hodl (1998 za Eggert i Guyétant 2003) według wzoru: $(\text{masa}/\text{SVL}^3) \times 100$. W celu przetestowania hipotezy o braku wpływu BCI na plamistość, zostanie wykonana regresja liniowa, gdzie zmienną zależną będzie powierzchnia plam.

Literatura

Badyaev A.V. and Hill G. E., 2000, Evolution of sexual dichromatism in birds: Contribution of carotenoid- versus melanin-based plumage coloration. *Biological Journal of Linnean Society* 69: 153-172.

Doucet S.M. i Mennill D.J., 2010, Dynamic sexual dichromatism in an explosively breeding neotropical toad. *Biological Letters* 6: 63-66.

Eggert C., Guyétant R. 2003. Reproductive behaviour of spadefoot toads (*Pelobates fuscus*): daily sex ratios and males' tactics, ages and physical condition. *Canadian Journal of Zoology* 81: 46-51.

Juszczyk W. 1987. Płazy i gady krajowe. PWN, Warszawa.

RAPORT WERSJA PIERWSZA

Analiza wpływu wybranych czynników na plamistość salamandry plamistej

Salamandra salamandra

Abstrakt

Ubarwienie „karotenoidowe” zwierząt pełni wielorakie funkcje. Poza ubarwieniem maskującym lub odstraszającym obecność żółtych lub czerwonych wzorów często świadczy o jakości osobnika i jego zdolności do rozrodu. U samców salamandry plamistej jako płci wybieranej, ubarwienie może być sygnałem atrakcyjności. Celem badań było sprawdzenie, czy wielkość powierzchni żółtych plam na ciele salamandry różni się między płciami. Ponadto powierzchnia ta powinna zależeć od kondycji osobników (BCI). Aby sprawdzić czy powierzchnia plam ma znaczenie jako kamuflaż, przeanalizowano wpływ siedliska na wielkość plam u salamander. W przypadku testu dla różnic między płciami otrzymano nieistotne różnice. Podobnie, osobniki pochodzące z różnych siedlisk nie różniły się powierzchnią plam. Powierzchnia plam była pozytywnie zależna od długości i masy ciała. Brak różnic między płciami może być artefaktem wynikającym z bardzo małej liczby samic w

próbie. W przypadku analizy siedliskowej, brak związku może wynikać z możliwości migracji/dispersji, znacznie przekraczających wymiary płatów różnych siedlisk w okolicy. Brak wpływu BCI na plamistość można tłumaczyć tym, że wzorzec plamistości ustala się w wieku ok. 2 lat życia osobnika, zatem zmieniające się z wiekiem BCI dorosłych osobników nie odzwierciedla kondycji młodych osobników i nie ma wpływu na wielkość plam.

Wstęp

Ubarwienie może być jednym z sygnałów świadczących o jakości osobnika. Wśród zwierząt takimi sygnałami są barwy pochodzenia karotenoidowego (żółte, czerwone, pomarańczowe). U dorosłych osobników obecność ornamentów „karotenoidowych” uwarunkowana jest głównie poprzez umiejętność zdobycia odpowiedniego pokarmu występującego w ograniczonej ilości, w mniejszym zaś stopniu zdeterminowana jest na etapie rozwoju zarodkowego. Zabarwienie pochodzenia karotenoidowego może być bezpośrednim wskaźnikiem zdolności zdobywania pokarmu i pośrednim wskaźnikiem stanu zdrowia (Grether et al. 2001). Im większą powierzchnię ciała zajmują barwy żółte, pomarańczowe i czerwone lub im bardziej są one intensywne, tym lepiej osobnik posiadający je jest przystosowany do zmiennych warunków środowiskowych. Równocześnie jest bardziej atrakcyjnym kandydatem do rozrodu, ponieważ zwiększa szansę posiadania potomstwa o większych szansach przeżycia i rozmnożenia się.

Badania dotyczące wybiórczości samic względem ubarwienia samców przeprowadzono na ptakach (np. Badyaev i Hill 2000). Niewiele jest natomiast prac poświęconych temu zagadnieniu u płazów (Doucet i Mennill 2010). Różne ubarwienie osobników może mieć tymczasem znaczenie przy wyborze partnera także w tej grupie organizmów. Wybór może mieć dwojaki mechanizm - samce niektórych gatunków wytwarzają szatę godową tylko na okres godów (np. żaba jeziorkowa *Pelophylax lessonae*), natomiast inne - jak salamandra plamista *Salamandra salamandra* - charakteryzują się niezmiennym ubarwieniem niezależnie od sezonu. U salamandry obecność żółtych plam na czarnym tle pełni funkcję odstraszącą drapieżniki (ubarwienie aposematyczne), jak również maskującą (żółte plamy na czarnym ciele mimo dużego kontrastu sprawiają, że osobniki są słabo widoczne, szczególnie w miejscach zacienionych). Sprawia to, że nawet jeśli istnieją preferencje w doborze partnerów na podstawie ubarwienia/plamistości, to są one bardzo subtelne. Niewykluczone jednak, że ubarwienie w pewnym stopniu spełnia rolę przyciągającą samice w okresie godowym i że samice mogą preferować samce z większym udziałem koloru żółtego jako kosztownego sygnału dobrej jakości, a więc atrakcyjności. Ponadto, większa inwestycja w plamy żółte może mieć znaczenie dla kryptyczności oraz aposematyczności przemieszczających się na duże odległości samców. Można zatem przypuszczać, że samce inwestują w żółte plamy w stopniu większym niż samice, w związku z czym istnieją różnice w powierzchni plam pomiędzy przedstawicielami różnych płci. Ponadto, wielkość powierzchni plam żółtych może być związana z typem siedliska w jakim dany osobnik lub (sub)populacja występują.

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy istnieje różnica w ubarwieniu „karotenoidowym” pomiędzy samcami a samicami u salamandry plamistej oraz czy powierzchnia plam żółtych jest związana z kondycją samca. Przewidywano, że powierzchnia żółtych plam u samców jest większa niż u samic. Ponadto, większy udział ubarwienia „karotenoidowego” może wynikać z kondycji osobników tzw. Body Condition Index (BCI). W przypadku wpływu siedliska przewidywano, że wystąpią różnice w wielkości powierzchni żółtych plam w zależności od typu siedliska, w którym osobnik został znaleziony.

Materiały i metody

Obiekt, teren badań

Obiektem badań były osobniki gatunku salamandra plamista *Salamandra salamandra* pochodzące z jednej populacji (Ochotnica Górna 49.5218°N; 20.2185°E, 708-850m.n.pm). Wyszukiwanie osobników odbywało się w nocy 09.09.2010 i w dzień 10.09.2010. Każdy osobnik został sfotografowany na standardowym tle wraz ze skalą (Fot.1). Na podstawie budowy kloaki określono płeć osobników (Juszczak 1987). Ponadto, wykonano pomiary długości ciała od końca pyska do końca kloaki SVL (ang. snout vent length) suwmiarką Digital Caliper z dokładnością do 1 mm oraz masy ciała przy użyciu wagi ENVAG KERN 60-2N z dokładnością do 0,01 g. Łączną powierzchnię żółtych plam na stronie grzbietowej każdego osobnika (z wyłączeniem łap, wg zmodyfikowanej metodyki w pracy Costa i inni (2009)) obliczono przy pomocy programu ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>; Fot.1). Ponadto, dla każdego osobnika określono typ siedliska, w jakim został znaleziony (1 – las; 2 - granica las/łąka; 3 - łąka).



Fot.1. Przykładowe zdjęcia analizowanej powierzchni plam samca salamandry plamistej. Po lewej: zdjęcie wykonane w terenie, po prawej: obraz plamistości uzyskany w programie ImageJ.

Analiza statystyczna

W celu sprawdzenia hipotezy o braku różnic między plamistością samców i samic posłużono się analizą kowariancji z zastosowaniem trzech modeli uwzględniających (i) płeć jako czynnik ustalony oraz masę ciała jako kowariatę, (ii) płeć jako czynnik ustalony oraz długość SVL jako kowariatę oraz (iii) płeć jako czynnik ustalony oraz wskaźnik kondycji BCI jako kowariatę. Wskaźnik BCI obliczono dla każdego osobnika ze wzoru: $(\text{masa}/\text{SVL}^3)/100$ według Jehle i Hodl (1998 za Eggert i Guyétant 2003). Dla określenia wpływu kondycji osobnika na plamistość sprawdzono istotność współczynnika regresji.

Aby przetestować istotność różnic w plamistości salamander znalezionych w różnych siedliskach, posłużono się analizą kowariancji stosując trzy poziomy czynnika „Typ siedliska” (1- las; 2 - las/łąka; 3 - łąka,) oraz: (i) masy ciała, (ii), długości SVL i (iii) wskaźnika kondycji BCI jako kowariatę.

Analiza kowariancji oraz test istotności współczynnika regresji zostały wykonane przy użyciu programu STATISTICA 9.0.

Wyniki

Podczas prowadzenia odłowów schwytano 30 osobników salamandry plamistej. Z analizy wykluczono trzy osobniki, które zostały zakwalifikowane jako niedojrzałe płciowo. Spośród pozostałych salamander 23 stanowiły samce, a cztery samice.

Różnice między płciami

Nie wykryto istotnych statystycznie różnic pomiędzy płciami zarówno w przypadku modelu z SVL jako kowariatą (Tab. 1, Ryc. 1) jak i masą ciała jako kowariatą (Tab. 2). W tych modelach istotny wpływ na plamistość miały kowariaty (Tab. 1 i 2; Ryc. 2 i 3). W przypadku modelu z BCI jako kowariatą, żadna ze zmiennych nie miała istotnego wpływu na plamistość. Analiza regresji nie wykazała istotnego wpływu kondycji osobników na plamistość samców ($R^2=-0,047$, $df=21$, $P=0,54$).

Wpływ siedliska

Podobnie jak w przypadku analizy różnic między płciami, zmiennymi istotnie wpływającymi na plamistość osobników były jedynie kowariaty: długość ciała SVL i masa ciała (Tab. 3 i 4, Ryc. 4). W modelu z BCI jako kowariatą, żadna zmienna nie miała istotnego wpływu na plamistość.

Tabela 1. Analiza kowariancji dla powierzchni żółtych plam, gdzie płeć jest czynnikiem ustalonym a długość ciała SVL (cm) – kowariatą.

	df	F	p
Płeć	1	2,73	0,11
SVL	1	25,08	<0,0001

Tab.2. Analiza kowariancji dla powierzchni żółtych plam, gdzie płeć jest czynnikiem ustalonym a masa (g) – kowariatą.

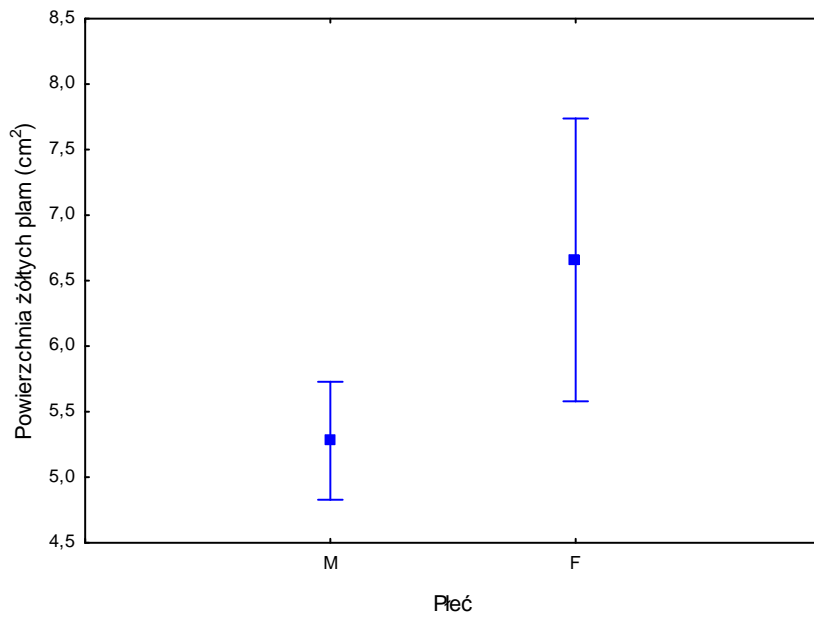
	df	F	p
Płeć	1	0,99	0,33
Masa	1	16,02	<0,001

Tab.3. Analiza kowariancji dla powierzchni żółtych plam, gdzie typ siedliska jest czynnikiem ustalonym a długość ciała SVL (cm) – kowariatą.

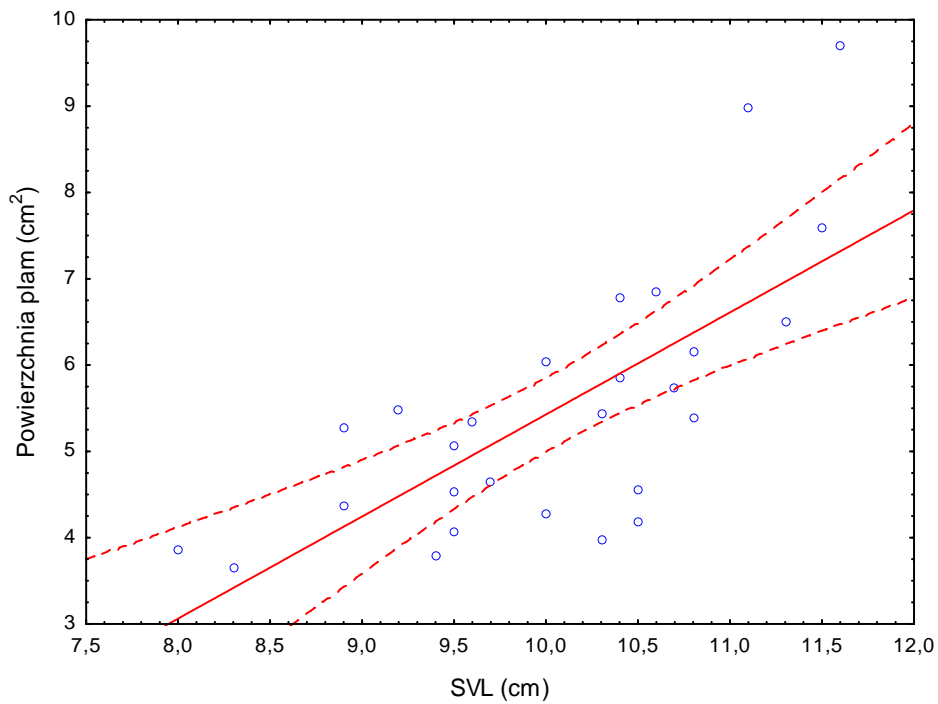
	df	F	p
Typ siedliska	2	1,28	0,30
SVL	1	27,57	<0,0001

Tab.4. Analiza kowariancji dla powierzchni żółtych plam, gdzie typ siedliska jest czynnikiem ustalonym a masa (g) – kowariatą.

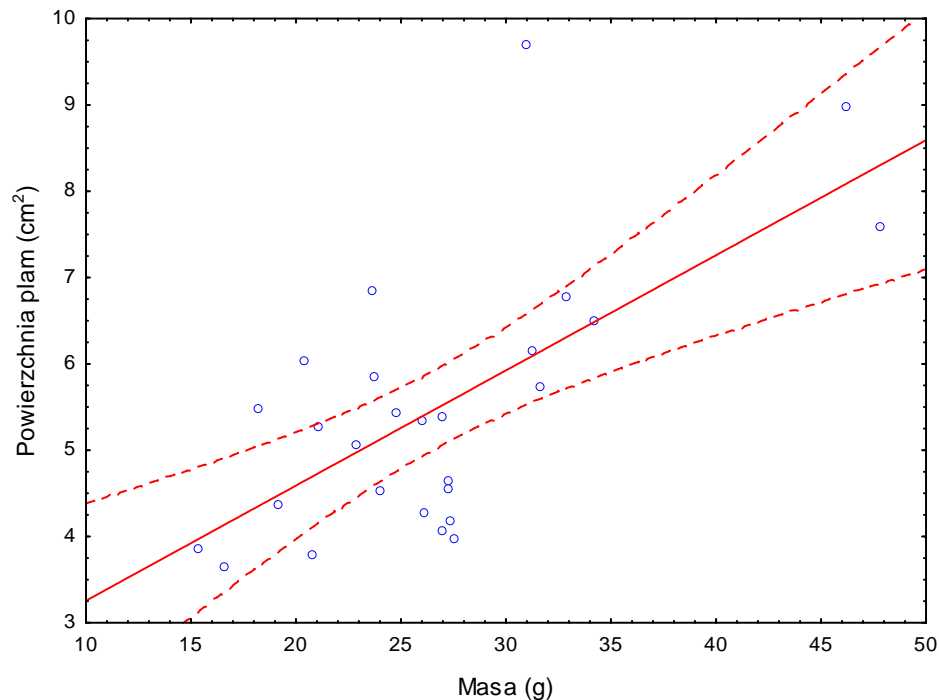
	df	F	p
Typ siedliska	2	1,32	0,29
Masa	1	21,27	<0,0001



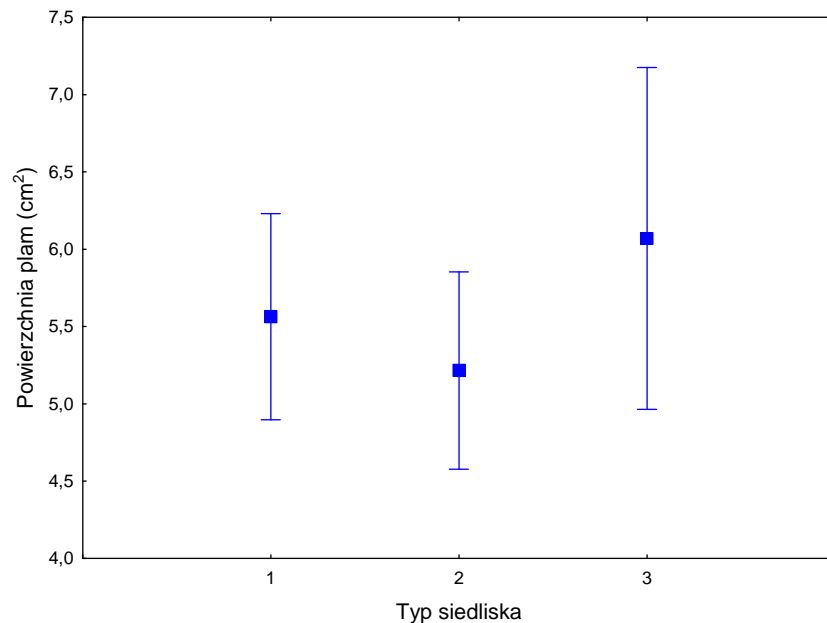
Ryc.1 Zależność powierzchni żółtych plam od płci z SVL jako kowariatą (M – samce; F – samice). Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności.



Ryc.2. Wpływ długości ciała salamander na plamistość. Linia przerywana oznacza 0,95 przedziały ufności.



Ryc.3. Wpływ masy ciała salamander na ich plamistość. Linia przerywana oznacza 0,95 przedziały ufności.



Ryc.4. Zależność powierzchni żółtych plam od typu siedliska (1 - las; 2 – granica las/łąka; 3 – łąka), z SVL jako kowariatą. Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności.

Dyskusja

Brak różnic między płciami w powierzchni plamistości może być artefaktem wynikającym z bardzo małej liczby samic w próbie. Nie można jednak wykluczyć, że główne funkcje plamistości (odstraszanie i maskowanie), mogą maskować bądź znosić znaczenie powierzchni plam w wyborze partnera do rozrodu.

Istnienie dużej zmienności w ubarwieniu salamandry plamistej związane jest z takimi cechami jak: powierzchnia zajmowana przez żółte plamy, liczba plam, symetryczność plam, rozmieszczenie względem osi ciała, intensywność barwy. Każda z tych cech może

przekazywać nieco inną informację. Brak różnic między powierzchnią żółtych plam u samców i samic salamandry plamistej może świadczyć o większym znaczeniu tej cechy w ochronie przed drapieżnikami oraz ukrywaniu się, niż sygnalizowaniu jakości.

Rozmieszczenie plam i ich wielkość jest stałą dla każdego dorosłego osobnika, (Bosch i Lopezbueis 1994, Costa i inni 2009) zatem może nie być najlepszą miarą do dokładnego wnioskowania o aktualnej kondycji, może natomiast odzwierciedlać ogólną żywotność.

Układ, wielkość i rozmieszczenie plam kształtuje się u osobników młodych do 2 roku życia.

Kondycja osobnika dojrzałego może w pewnym stopniu wynikać z kondycji w okresie młodocianym, gdy formuje się ostateczna plamistość, co pozwala zakładać istnienie związku kondycji u osobników dojrzałych z plamistością. Wyniki jednak nie potwierdziły tego założenia. Możliwe, że sygnałem, który jest brany pod uwagę przy wyborze partnera przez samicę jest w większym stopniu intensywność koloru, ze względu na przypuszczalnie dużo krótszy czas reakcji na zmiany w kondycji osobnika. Niestety nie ma danych na temat powiązania intensywności barwy z kondycją u salamandry i jej potencjalnej lepszej jakości. Wiadomo natomiast, że u ptaków taka zależność występuje (Hill 1991). Analiza korelacji intensywności koloru i kondycji mogłaby to potwierdzić, ale w omawianych badaniach nie była możliwa do zrealizowania. Znaczenie może mieć również liczba plam i ich wzór rozmieszczenia. Należy zaznaczyć, że nie znane są nam prace potwierdzające jakiegokolwiek wpływ cech plamistości na wybór partnera, więc możliwe, że cecha ta nie ma znaczenia lub ma znaczenie marginalne. Brak jest również szczegółowych analiz wpływu poszczególnych cech składających się na plamistość w odstraszeniu drapieżników czy zdolności do kamuflażu, które pokazałyby jak silny jest wpływ tych czynników w utrzymywaniu się takiej zmienności w plamistości. Wyewoluowanie takiej cechy jak plamistość (ubarwienie „karetonoidowe”) i utrzymywanie się jej w środowisku mimo występowania osobników melanistycznych w populacji świadczy o silnym doborze działającym na tą cechę i jej istotności.

Okolice Ochotnicy Górnej stanowią mozaikę lasów i łąk. Nie wykazano preferencji salamander do żadnego z tych środowisk. Często nie było możliwe jednoznaczne zakwalifikowanie osobnika do konkretnego typu siedliska (granica łąki i lasu). Ponadto, poszczególne osobniki mogą swobodnie przemieszczać się między różnymi siedliskami, ponieważ płyty siedlisk są niewielkie, co tłumaczyłoby brak różnic w powierzchni plam między salamandrami z różnych typów siedlisk.

Ograniczony czas na realizację badań oraz mała próba, szczególnie widoczna w liczebności schwytych samic, nie pozwala na wyciąganie jednoznacznych wniosków. Badania te pokazują jednak, że istnieje duża zmienność w plamistości, która może wpływać na inne cechy. Niewątpliwie ze względu na istotność tej cechy i potencjale jej zastosowanie w ochronie salamandry badania nad nią są uzasadnione i ważne.

Literatura:

Badyaev A.V. and Hill G. E., 2000. Evolution of sexual dichromatism in birds: Contribution of carotenoid- versus melanin-based plumage coloration. Biol. J. of Linn. Soc. 69: 153-172.

Bosch J., Lopezbueis I., 1994. Comparative study of the dorsal pattern in *Salamandra salamandra bejarae* (Wolterstoref, 1934) and *S-s almanzoris* (Muller and Hellmich, 1935). Herp. J. 4: 46-48.

Costa C, Angelini C, Scardi M, 2009. Using image analysis on the ventral colour pattern in *Salamandrina perspicillata* (Amphibia: Salamandridae) to discriminate among populations. Biol. J. Linn. Soc. 96: 35-43.

Doucet S.M., Mennill D.J., 2010. Dynamic sexual dichromatism in an explosively breeding neotropical toad. Biol. Letters. 6: 63-66.

Eggert C., Guyétant R., 2003. Reproductive behaviour of spadefoot toads (*Pelobates fuscus*): daily sex ratios and males' tactics, ages and physical condition. Can. J. of Zool. 81: 46-51.

Grether, G.F., Hudon, J., Endler, J.A., 2001. Carotenoid scarcity, synthetic pteridine pigments and the evolution of sexual coloration in guppies, Proc Biol Sci. 268:1245-53.

Hill, G.E., 1991. Plumage coloration is a sexually selected indicator of male quality. Nature 350: 337-339.

Juszczyk W., 1987. Płazy i gady krajowe. PWN, Warszawa.

RECENZJE

Magdalena Zagalska Neubauer

Recenzja projektu: „Analiza wpływu wybranych czynników na plamistość salamandry plamistej *Salamandra salamandra*”

Przedstawione zagadnienie jest ciekawe i potencjalnie wartie bardziej wnikliwych badań. Sam temat projektu lepiej było sformułować jako „Wpływ wybranych czynników...” niż „Analiza wpływu wybranych czynników ...”. Wiadomym jest przecież, że zbadanie wpływu wymaga analizy. Abstrakt jest najśłabszą częścią przedstawionego projektu (co w sumie świadczy o nim bardzo dobrze). Zawiera nieprecyzyjnie przedstawione podstawy teoretyczne oraz w ogóle nie odnosi się do oczekiwanych wyników. Wyniki prezentowane w abstrakcie powinny jasno odnosić się do celu badań. We wstępie Autorzy jasno prezentują istotę projektu, cel i założenia. Podstawy teoretyczne wielkości plam u salamandry w zależności od płci i kondycji osobników są klarowne i ciekawie przedstawione, jednak moje zastrzeżenia budzi aspekt dotyczący wielkość powierzchni plam żółtych i ich potencjalny związek z typem siedliska. Autorzy nie pokusili się o teoretyczne uzasadnienie swoich założeń. Materiały i metody zawierają większość koniecznych informacji, jednak metodyka zbierania materiału wymaga uzupełnienia. Jeśli badania miałyby być powtórzone to kluczowe byłoby dokładniejsze opisanie sposobu zbioru materiału, w tym przypadku, np. długość transektu, sposób próbkowania etc. Opis ten ma również znaczenia dla właściwej interpretacji uzyskanych danych. Dlaczego zebrano tak mało samic? Może wynika to ze sposobu próbkowania? Czy próba odwzorowuje proporcje płci w populacji? Niemniej zastosowana metodyka sugeruje, że Autorom nie jest obca praca terenowa z tą grupą zwierząt. Autorzy fotografowali chwytane osobniki w standardowych warunkach, a do analizy plam barwnych wykorzystali odpowiedni program. Szkoda, że nie pokusili się dodatkowo o analizę nasycenia żółtej barwy z wykorzystaniem programu do grafiki (są darmowe dostępne w internecie – np. GIMP), bo przecież standaryzacja warunków wykonywania zdjęć umożliwia odczytanie nasycenia barwy z fotografii cyfrowej. Wystarczyłoby przecież na grzbiecie każdej z salamander losowo wybrać np. 5 punktów na żółtych plamach i zmierzyć nasycenie. Uzupełnienie badań o ten aspekt umożliwiłoby dużo głębsze spojrzenie na ubarwienie jako cechę mającą znaczenie

przy wyborze partnera u salamandry, bo jak piszą sami Autorzy, skoro nie wielkość plam, to pewnie intensywność koloru jest tu istotna (tak jak wykazano u ptaków). Autorzy sami piszą że nie ma danych na ten temat, więc potencjalnie jest to dobry temat na niewielką publikację. Można by też wtedy zbadać czy intensywność odzwierciedla kondycję (z dyskusji wiemy, że wielkość plam raczej nie bardzo nadaje się na wskaźnik kondycji, bo jest stała po 2 roku życia, a kondycja zmienna). Wyniki prezentowane są zwięźle i wzbogacone są o tabele i ryciny. Patrząc na ryc. 1, i wiedząc o silnie nierównej liczebności prób w grupach M i F, bardzo prawdopodobne wydaje się, że różnica między płciami rzeczywiście istnieje, a duży rozrzut w grupie F jest efektem niskiej liczby schwytanych samic. Prawie na pewno odłowienie większej liczby samic umożliwiłoby odrzucenie hipotezy o braku różnic między płciami. Trzeba tu przyznać Autorom, że mimo niskiej próby wyniki przedstawione są efektownie. Brakuje jednak zbiorczej tabeli zawierającej statystyki opisowe cech używanych dalej jako kowariaty (masa, długość, kondycja - średnia, rozrzut w grupach płciowych). Wydaje się też nie do końca uzasadnione zastosowanie aż trzech modeli. Chyba najpierw można by zbadać korelacje między zmiennymi używanymi jako kowariaty, a jeśli np. masa i długość są istotnie skorelowane – w sumie trudno oczekiwać że jest inaczej – to obie zmienne niosą tę samą informację biologiczną, mówiącą nam o wielkości zwierzęcia. Można zatem uwzględnić tylko jedną z nich w jednej analizie, lub jakąś ich wypadkową (np. składową główną z PCA). W obecnej postaci, w modelach (i) i (ii) użyta jest kowariata mówiąca o tym samym - wielkości ciała. Związek powyższy wydaje się oczywisty (ale z Wyników nie dowiadujemy się w którą stronę jest ta zależność: większe zwierzę – większe plamy czy odwrotnie), ale nie został wyjaśniony. Dyskusja jest wyczerpująca, niemniej wymagałaby pewnego wygładzenia. Nie jest prawdą, że w przedstawionych badaniach nie było możliwe przeanalizowanie intensywności koloru (patrz uwagi do metod). Akapit dotyczący preferencji siedlisk u salamander jest nieuzasadniony - tego nie badano. Żeby zbadać preferencje, trzeba by w jakiś sposób uwzględnić intensywność kontrolowania poszczególnych typów siedlisk (przykładowo – włączony GPS w kieszeni mierzący długość tras przemarszu – jeśli grupa szła razem i mniej więcej równomiernie przeglądała teren wzdłuż trasy, to długość trasy będzie dobrze przybliżać jak duży obszar badacze skontrolowali). Autorzy wykazali się krytycznym podejściem do uzyskanych wyników i profesjonalnym zebraniem danych. Zgromadzona literatura jest skąpa, ale adekwatna do analizowanego problemu. Autorzy powinni też zwrócić uwagę na „szczegóły” np. pisownia nazwisk (Badayev). Podsumowując, projekt uważam za interesujący, można by się też pokusić o wprowadzenie go w życie na większą skalę.

Emilia Grzędzicka

Recenzja projektu: „Analiza wpływu wybranych czynników na plamistość salamandry plamistej *Salamandra salamandra*”

Autorzy w swoim raporcie chcieli wykazać związek powierzchni plam u salamandry plamistej z płcią oraz środowiskiem występowania zwierząt. Gdyby udało się udowodnić, że plamistość jest oznaką dymorfizmu płciowego, wkład w wiedzę na temat ekologii i biologii tych płazów byłby niezaprzeczalny, więc rozumiem sens pytania. Niestety, wyniki obrały nieco inny kierunek, stąd próba przeniesienia ich na inne zagadnienie, jakim było sprawdzenie znaczenia plam w siedlisku występowania, a raczej potwierdzenie tego co już wiadomo (kamouflaż).

Ogólnie tekst czyta się dobrze, jest zrozumiały i logiczny. Wydaje mi się, że wstęp porusza zbyt wiele tematów: jest mało o samym dymorfizmie płciowym i jego przejawach w świecie zwierząt, brakuje przykładu czy rozmiar plam bez intensywności barwy bywa jego

oznaką. Już we wstępie widać próbę ukierunkowania wyników na aspekt środowiskowy. Może lepiej by było napisać coś więcej o sposobie powstawania plam, prowadzono sporo ciekawych badań na *Danio* przegowanym, który jest systematycznie bliżej płazów niż ptaki (Watanabe 2006, Kondo 2009). Można też zajrzeć do filogenezy plam u płazów, jak to zrobili badacze na dużych kotach (Werdelin & Olsson 1997), żeby bardziej ugruntować ewolucyjny sens plam (atraktanty dla samicy czy kwestia gatunku/ podgatunku?). Cel jest jasny, ale nie do końca wynika ze wstępu. Skoro autorzy chcą sprawdzić czy plamy odzwierciedlają kondycję osobnika, co z cytacjami dotyczącymi związku plam z pasożytami skórnymi? Warto także napisać o statusie ochronnym salamandry, co może stać się atutem lub przeszkodą (badania na chronionych kręgowcach).

Nie mam uwag co do odłowów i żmudnych analiz w programie komputerowym – na badania było raptem nieco ponad jeden dzień, napisałabym tylko coś o kiepskich warunkach pogodowych. Brakuje mi uściślenia procedur do pytania. Jeżeli wyniki mają odzwierciedlać związek plam ze środowiskiem, to dlaczego odłowu prowadzono w nocy i w dzień? Czy w obu wypadkach osobnik znaleziony w danym miejscu jest na swoim siedlisku, czy nocą bardziej oddala się na żer? Co oznacza las/ łąka – strefę ekotonową, czy brak możliwości jednoznacznego zdefiniowania środowiska? Niestety, tutaj wychodzi fakt, że pierwotnie pytanie dotyczyło dymorfizmu salamandry. Warto bliżej wyjaśnić użycie czynników w statystyce. Dlaczego w analizie kowariatą była masa – czy samice o tej porze nie bywają w stanie błogosławionym, co mogło wpłynąć na wyniki, podobnie jak żerowanie w nocy (i większa waga po jedzeniu) w odróżnieniu od dnia?

Co do dyskusji, to skupiłabym się na powierzchni plam, a nie na ich intensywności, której w ogóle nie badano. Nie spekulowałabym na temat roli intensywności plam, bo wcześniej o tym nie napisano w tekście. Abstrakt wydaje się zbyt długi i zawiera zdania, które powinny znaleźć się w dyskusji. Mam też jedną uwagę: autorzy są „za bardzo” świadomi swoich niedociągnięć. Temat jest przecież bardzo nośny i atrakcyjny; zawsze lepiej pisać, że wykonało się obiecującą pracę o charakterze wstępnym, niż błędne badania. Fakt odłowu czterech samic nie wynika przecież z winy autorów. Na początku w dyskusji jest nadużycie słowa „maskowanie” – można napisać, że „główne funkcje plamistości niwelują znaczenie powierzchni plam...”. Unikałabym także nadużywania słowa „przypadek”. Według prof. Miodka, jeżeli mamy coś nagłego, niespodziewanego i niezaplanowanego, to jest to przypadek, natomiast w kontekstach z tekstu pisze się „w wypadku...”.

Na zakończenie dodam jeszcze, że warto poszukać czegoś więcej na temat roli plamistości u salamandry, a zwłaszcza jej ewentualnego związku z pasożytami; jest taka ciekawa praca: Doherty et al. 2003. *Diagnostic and molecular evaluation of three iridovirus – associated salamander mortality events*. Mam nadzieję, że moje uwagi pomogą autorom poprowadzić kiedyś jeszcze ciekawsze badania i mimo podpisania tej recenzji swoim nazwiskiem, nie znajdę na sobie żadnych plam ☺

Filip Kapustka

Recenzja projektu: „Analiza wpływu wybranych czynników na plamistość salamandry plamistej *Salamandra salamandra*”

1. Projekt jest ciekawy i istotny ze względu na swoją wartość w ochronie gatunku chronionego jakim jest salamandra plamista. Użyte metody pozwalają przy odpowiednim czasie ich realizacji wzbogacić wiedzę o jednym z gatunków chronionych w Polsce.
2. Tytuł jest bardzo ogólny i nie zdradza za wiele z treści badań jakie zostały przeprowadzone.

3. Wstęp nie jest przejrzysty. Po jego przeczytaniu nie mam pojęcia o co chodzi jego autorom, co chcą pokazać w tej pracy i tak na prawdę po co salamandrom kolorowe plamy. Na szczęście jest na końcu akapit o celach pracy, który przybliży cel natomiast nie do końca jest jasne, czy informacje we wstępie mają być potwierdzone, zaprzeczane, weryfikowane czy może nigdy nie były sprawdzane i teraz będą po raz pierwszy prowadzone na ten temat badania.
4. Czy analizy kowariancji nie mogły by być zebrane w tabeli a wartości istotne pogrubione? Obecna wersja jest mało przejrzysta i zajmuje niepotrzebne miejsce.
5. Czy powierzchnia plam u poszczególnych płci nie powinna być ważona na jednostkę powierzchni osobnika? Sama wielkość plam może być tylko powiązana z wielkością ciała danego osobnika. Im większy osobnik tym większa powierzchnia plam.
6. Strona 7, wiersz 17 – po co zatem były te badania?
7. Ciekawe były by badania czy kolor plam jest wykształcany raz na całe życie czy może zmieniać się w trakcie życia (np. blaknąć), a co za tym idzie musi być podtrzymywany przez dostarczanie odpowiedniej ilości karotenoidów. Wynik takich badań byłby odpowiedzią na wiele zadanych we wstępie pytań.

Michał Kuciel

Recenzja projektu: „Analiza wpływu wybranych czynników na plamistość salamandry plamistej *Salamandra salamandra*”

Autorzy podjęli próbę określenia zależności wybranych czynników na plamistość salamandry. Temat pracy jest jasny i zrozumiały. Wstęp jest przejrzysty i jasno dąży do celu pracy oraz stawianych problemów badawczych, ale brakuje argumentacji za podjęciem tego typu badań. Tekst jest napisany poprawnie pod względem stylistycznym i edytorskim. Opracowanie jest ciekawe, zawiera prostą i jasną analizę statystyczną. Widać, że autorzy są dobrze zorientowani w danym temacie i że mają dużą wiedzę z zakresu ekologii płazów.

Narzuca mi się pewna wątpliwość związana z próbą określania kondycji samców na podstawie powierzchni żółtych plam i zasadnością podejmowania tego zagadnienia. Jeżeli powierzchnia żółtych plam miałyby świadczyć o dobrej kondycji samca, to tylko wtedy, gdy nie jest ona stałą (niezmienną) cechą osobniczą, a wiemy że jest to cecha która nie zmienia się od 2 roku życia. Jest to zapewne cecha o podłożu genetycznym, a nie środowiskowym. Jeżeli jedynie powierzchnia żółtych plam (będąca stałą cechą) świadczyłaby o dobrej kondycji, to w skrajnym przypadku osobnik posiadający dużą powierzchnię żółtych plam, a np. nieodporny na pasożyty mógłby łatwiej osiągać sukces rozrodczy. O kondycji mogłaby zatem świadczyć jakaś zmienna cecha tych plam, a nie ich powierzchnia.

Wydaje mi się że nie można pisać w przypadku ubarwienia salamandry o równoczesnej funkcji aposematycznej i kryptycznej w każdych warunkach siedliskowych.

Uważam, że aktualnie oceniany przeze mnie projekt jest interesujący, a wyniki mogą dostarczyć ważnych informacji do istniejącego już stanu wiedzy na temat salamander.

Justyna Morawska-Płoskonka

Recenzja projektu: „Analiza wpływu wybranych czynników na plamistość salamandry plamistej *Salamandra salamandra*”

Raport ma pełną konstrukcję o ścisłym abstrakcie i dobrze rozwiniętym wstępie. Problem badawczy i cel pracy jest wyłożony klarownie. Metodyka badań opisana jest w sposób dokładny. W tekście dot. wyników pojawiają się niejednolite opisy tabel i rycin. Tabela 2

powinna znajdować się na jednej stronie. Dyskusja przeprowadzona jest bardzo płynnie, oparta o dobrze dobraną literaturę, co sprawiło, że praca jest bardzo ciekawa.

Anna Wandycz

Recenzja projektu: „Analiza wpływu wybranych czynników na plamistość salamandry plamistej *Salamandra salamandra*”

Badany przez Autorów temat jest bardzo interesujący. Autorzy włożyli sporo wysiłku w przeprowadzenie badań. Cel projektu jest jasno przedstawiony, a wybór metod użytych do przeprowadzenia badań świadczy o dobrej znajomości metod wykorzystywanych w badaniach płazów i nie tylko. ;)

Uwagi:

- Wydaje mi się, że abstrakt jest odrobinę za długi, w abstrakcie nie powinny pojawiać się skrótowo (BCI) bez podania ich pełnego wyjaśnienia;
- nie bardzo rozumiem dlaczego Autorzy raz sugerują, że osobniki, mimo swoich jaskrawych plam są słabo widoczne ale już podczas godów ich ubarwienie jest bardzo dobrym sygnałem;
- we wstępie dobrze byłoby podać, że salamandra ma zdolność widzenia kolorów;
- w materiałach i metodach podane jest, że każdy osobnik fotografowany był na standardowych tle, ale myślę, że chodziło o jednakowe tło;

Ogólnie praca bardzo mi się podoba, szkoda, że Autorzy nie znali tematu swojego projektu pierwszego dnia pobytu w Ochotnicy, kiedy to spotkaliśmy największą liczbę zwierząt.

RAPORT WERSJA OSTATECZNA

Wpływ płci i typu siedliska na powierzchnię plam salamandry plamistej

***Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758)**

Abstrakt

Ubarwienie zwierząt pełni wielorakie funkcje. Należą do nich między innymi odstraszenie drapieżników (ubarwienie aposematyczne) oraz kamuflaż (ubarwienie kryptyczne). Samce niektórych gatunków, m.in. salamandry plamistej, w czasie godów wędrują w poszukiwaniu samic, przez co są bardziej narażone na drapieżnictwo. Może się to wiązać z różnicami w inwestycji w aposematyczność, odzwierciedlonymi poprzez powierzchnię żółtych plam. Celem badań było sprawdzenie, czy wielkość powierzchni żółtych plam na ciele salamandry różni się między płciami. Ponadto, aby sprawdzić czy powierzchnia plam ma znaczenie jako kamuflaż, przeanalizowano wpływ siedliska na wielkość plam u salamander. Wykazano różnice w powierzchni plam między płciami. Natomiast osobniki pochodzące z różnych siedlisk nie różniły się powierzchnią plam.

Wstęp

U salamandry plamistej *Salamandra salamandra* obecność żółtych plam na czarnym tle pełni funkcję odstraszącą drapieżniki (ubarwienie aposematyczne), jak również maskującą

(Juszczyk 1987). Na cechy nazywane plamistością składają się wielkość, kształt plam, ich rozmieszczenie i jaskrawość. Żółte plamy na czarnym ciele mimo dużego kontrastu sprawiają, że osobniki są słabo widoczne, szczególnie w miejscach częściowo zacienionych. Dorosłe osobniki charakteryzują się stałym wzorem plamistości, determinowanym w początkowym okresie rozwoju (do drugiego roku życia). W trakcie okresu rozrodczego u płci obserwowane są różnice w behawiorze, polegające na większej mobilności samców, które przemieszczają się w poszukiwaniu samic (Schulte i in. 2007). Samice pozostają w pobliżu cieków wodnych, w kryjówkach bądź blisko nich. Samce są zatem bardziej narażone na drapieżnictwo. W związku z tym, mogą występować różnice w plamistości między płciami. Ponadto, wielkość powierzchni plam żółtych może być związana z typem siedliska, w jakim dany osobnik lub (sub)populacja występują. Siedliska salamandry plamistej różnią się między sobą, dlatego też w zależności od miejsca występowania osobniki mogą być mniej/bardziej kryptyczne. Przykładem jest złożoność barw podłoża lasów, która często harmonizuje z jaskrawym ubarwieniem salamandry (Juszczyk 1978). Nieco inna powierzchnia plam może zatem charakteryzować osobniki żyjące w lesie o ubogim podszyściu i ciemnym podłożu, a inna na łąkach, z gęstą darnią, w której salamandry mogą się ukrywać.

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy istnieje różnica w powierzchni żółtych plam na ciele osobnika pomiędzy samcami a samicami u salamandry plamistej oraz czy wielkość powierzchni żółtych plam zależy od typu siedliska, w którym osobnik został znaleziony.

Materiały i metody

Obiekt, teren badań

Obiektem badań były osobniki gatunku salamandra plamista *Salamandra salamandra* pochodzące z jednej populacji (Ochotnica Górna 49.5218°N; 20.2185°E, 708-850m.n.pm). Wyszukiwanie osobników odbywało się w nocy 09.09.2010 i w dzień 10.09.2010 w optymalnych do odłowu warunkach pogodowych, w potencjalnych siedliskach występowania (okolice strumieni, wilgotne miejsca). Dla każdego osobnika określono typ siedliska, w jakim został znaleziony (1 – las; 2 - granica las/łąka; 3 - łąka) oraz wykonano fotografię na jednakowym tle wraz ze skalą (Fot.1). Na podstawie budowy kloaki określono płeć osobników (Juszczyk 1987). Łączną powierzchnię żółtych plam na stronie grzbietowej oraz całą powierzchnię strony grzbietowej każdego osobnika (z wyłączeniem łap, wg zmodyfikowanej metodyki w pracy Costa i inni (2009)) obliczono przy pomocy programu ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>; Fot.1).



Fot.1. Przykładowe zdjęcia analizowanej powierzchni plam samca salamandry plamistej. Po lewej: zdjęcie wykonane w terenie, po prawej: obraz plamistości uzyskany w programie ImageJ.

Analiza statystyczna

Aby sprawdzić czy samce i samice różnią się powierzchnią plam żółtych posłużono się analizą kowariancji z zastosowaniem modelu uwzględniającego płeć jako czynnik ustalony oraz powierzchnię strony grzbietowej jako kowariatę, w celu kontrolowania wpływu powierzchni osobnika na powierzchnię żółtych plam. Aby przetestować istotność różnic w powierzchni plam żółtych salamander znalezionych w różnych siedliskach, posłużono się analizą kowariancji stosując trzy poziomy czynniki „Typ siedliska” (1- las; 2 - las/łąka – strefa ekotonowa; 3 - łąka,) oraz powierzchnię strony grzbietowej jako kowariatę. Analizy wykonano w programie STATISTICA 9.9.

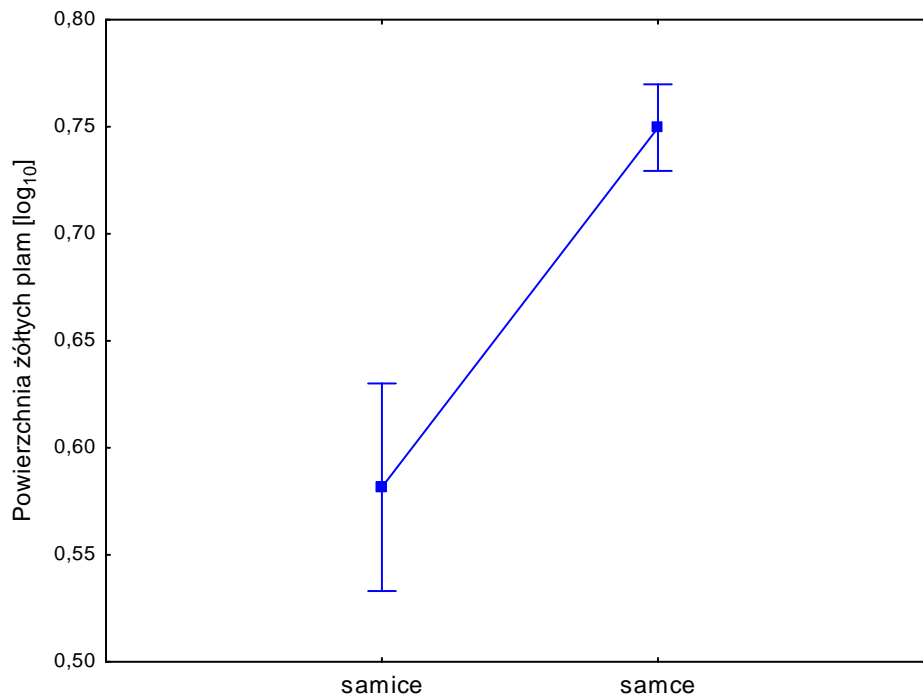
Wyniki

Podczas prowadzenia odłowów schwytano 30 osobników salamandry plamistej. Z analiz wykluczono trzy osobniki, które zostały zakwalifikowane jako niedojrzałe płciowo. Spośród pozostałych salamander 23 stanowiły samce, a cztery samice. Rozkład zmiennej zależnej był prawoskośny, dlatego posłużono się transformacją danych (logarytm dziesiętny).

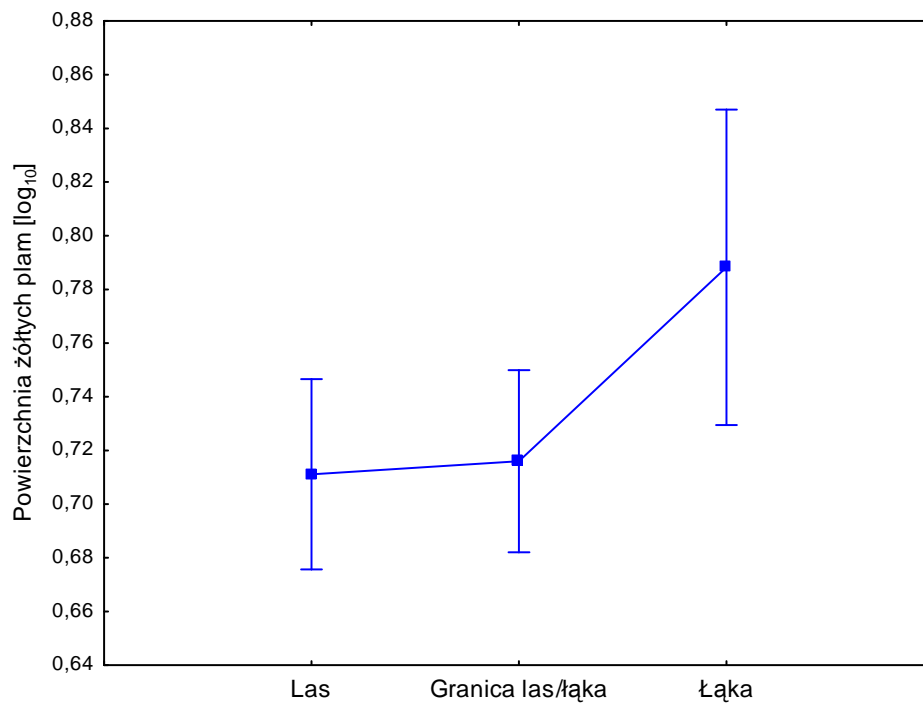
Interakcja pomiędzy czynnikami „płeć” i „powierzchnia strony grzbietowej” okazała się nieistotna, została więc usunięta z modelu. Wykryto istotne statystycznie różnice w powierzchni plam żółtych pomiędzy płciami (Tab. 1, Ryc. 1). Typ siedliska nie wpływał istotnie na powierzchnię plam żółtych (Tab. 1, Ryc. 2).

Tab. 1. Analiza kowariancji dla powierzchni żółtych plam, gdzie płeć i typ siedliska to czynniki ustalone a powierzchnia strony grzbietowej – kowariata.

	df	F	p
Płeć	1	10,22	0,004
Powierzchnia strony grzbietowej	1	0,00	0,973
Typ siedliska	2	0,44	0,651
Powierzchnia strony grzbietowej	1	0,01	0,923
Typ siedliska x Powierzchnia strony grzbietowej	2	0,44	0,653



Ryc.1. Zależność powierzchni żółtych plam od płci z powierzchnią strony grzbietowej jako kowariatą. Pionowe słupki oznaczają SE.



Ryc.2. Zależność powierzchni żółtych plam od typu siedliska z powierzchnią strony grzbietowej jako kowariatą. Pionowe słupki oznaczają SE.

Dyskusja

Wykazano istotne różnice w powierzchni żółtych plam między płciami u salamandry plamistej. Większa względna powierzchnia żółtych plam może mieć znaczenie dla samców jako ubarwienie aposematyczne, szczególnie istotne podczas migracji związanej z rozrodem (w celu poszukiwania samicy). W istocie, wykazano, że u salamandry plamistej samce są płcią bardziej mobilną (Schulte i in. 2007). W związku z pokonywaniem większych odległości, samce mogą być bardziej narażone na ataki drapieżników, stąd może mieć znaczenie przystosowanie w postaci większej powierzchni żółtych plam. Odwrotnie, samice jako płć mniej mobilna, mogą mniej inwestować w kosztowne barwniki karotenoidowe. Należy jednak pamiętać, że mała liczebność próby i znaczna dysproporcja płci mogą sprawiać, że uzyskane wyniki są dziełem przypadku. Dysproporcja płci wynika z większej ruchliwości samców i większego prawdopodobieństwa napotkania ich w terenie w porównaniu z samicami, które nawet do późnych godzin nocnych mogą przebywać w kryjówkach (Bonk i Kajzer, obserwacje własne).

Nie wykazano istotnej różnicy w powierzchni plam w zależności od siedliska. Może to wynikać z faktu, że objęty badaniami niewielki obszar (10 ha) stanowi mozaikę lasów i łąk, co może powodować, że poszczególne osobniki swobodnie przemieszczają się między różnymi siedliskami. Ponadto, osobniki obecne były na granicy siedlisk. Pociągało to za sobą konieczność uwzględnienia dodatkowego poziomu czynnika „Typ siedliska” – granica las/łąka, co przy tak małej próbie osłabiło moc testu. Niewykluczone, że powierzchnia plam może być jednak zdeterminowana przez typ siedliska. W takim wypadku wynik niniejszych badań świadczyłby o dużych zdolnościach do dyspersji przekraczających wymiary płatów siedlisk objętych niniejszymi badaniami. W związku z faktem, że znaczną większość próby stanowiły samce, które są bardziej mobilne, interpretacja taka może być słuszna.

Literatura

Costa C, Angelini C, Scardi M, 2009. Using image analysis on the ventral colour pattern in *Salamandrina perspicillata* (Amphibia: Salamandridae) to discriminate among populations. Biol. J. Linn. Soc. 96: 35-43.

Juszczyk W., 1987. Płazy i gady krajowe. PWN, Warszawa.

Schulte U., Küsters D., Steinfartz S. 2007. A PIT tag based analysis of annual movement patterns of adult fire salamanders (*Salamandra salamandra*) in a Middle European habitat. Amphibia-Reptilia 28: 531-536.

