

Posudek oponenta doktorské disertační práce

Doktorská disertační práce Mgr. Jana Okrouhlíka s názvem „**Mammalian energetic savings in subterranean environment**“ má 46 stran a sestává z úvodu (str. 1-12) a pěti publikovaných článků.

Téma velikosti metabolismu a termální biologie podzemních savců je neobyčejně zajímavé, zvláště pak v kontextu evoluce sociality. Jako koncepční základ disertačního projektu je plně relevantní.

Úvod je v souladu se zvyklostmi JČU poměrně stručný a spíše jen shrnuje výsledky jednotlivých do souboru disertační práce zařazených publikací.

Hodnocená disertační práce přináší celou řadu dílčích zjištění, které jsou výsledkem jednotlivých studií. Každá z těchto studií má promyšlené experimentální uspořádání a odpovídá na specifické předem formulované otázky. Jednotlivé články jsou publikovány v předních oborových časopisech s IF. Jsou to *Physiology and Behavior* (2x), *Comparative Biochemistry and Physiology part A*, *Journal of Thermal Biology* a *Journal of Biological Rhythms*. V nich již prošly recenzním řízením, a tudíž se v nich téměř nevyskytují zjevné formální či věcné nedostatky. V jediném případě je doktorand prvním autorem (práce č. V), jednou je autorem posledním (práce č. III), v ostatních případech pak na jiných, méně čestných, místech seznamu spoluautorů.

Výsledky oceňuji metodickou pestrost od klasické respirometrie prováděné nejen v laboratoři, ale i v terénních podmínkách, přes isotopovou metodu (DLW), telemetrii, přímé měření tělní teploty, až po stanovení teploty tělního povrchu z termogramů. Protože přínos doktoranda ke vzniku těchto prací se podle v disertaci dostupných údajů týká především zavedení, aplikace a interpretace výsledků většiny z těchto metod, považuji tuto skutečnost za významnou pro hodnocení výsledků celého disertačního projektu.

Většinu publikovaných prací zařazených do disertačního díla Mgr. Jana Okrouhlíka jsem četl již dříve při jiných příležitostech a tak jsem poněkud vyčerpal své diskusní zaujetí. K práci mám následující dílčí věcné připomínky a otázky na uchazeče o doktorský titul:

(1) Citace Kleibera (1961) na str. 4 je následována větou o poměru povrchu a objemu. Je to trochu zavádějící. Chtěl bych proto požádat autora o rozbor současných názorů na alometrii metabolismu nejen u savců, ale i ektotermních živočichů. Věří se ještě na exponent 2/3 nebo spíše na $\frac{3}{4}$?

(2) Diskuse na staně 6 týkající se významu daily energy expenditure versus snadnosti měření rating metabolit rate (RMR) je podstatná, ale bylo by záhadno jí rozvést. Může se uchazeč k této věci vyjádřit při obhajobě? Obecně sice souhlasím, ale zůstává tu skutečnost, že RMR je s maximálním či pracovním metabolismem korelována. Takže je obtížné jednotlivé komponenty separovat.

(3) K práci III (str. 24): ontogeneze termoregulačních funkcí je u savců běžnou záležitostí, a tedy nekompletní stav u subadultů by nemusel nikoho udивovat. Nelze ale nevidět, že se většinou jedná o altriciální a nikoli prekociální mláďata. Výskyt takového stavu u ryposu *Fukomys darlingi* mi připadá velmi významný i v případě, že se omylem jednalo o jedince nikoli kultní, ale subadultní. Pokud je takový stav běžný v pokročilé ontogenetické fázi, lze snadno předpokládat jeho objevení v dospělosti

v důsledku pouhé heterochronie. To by vysvětlovalo nejen anomální stav u *Heterocephalus glaber*. Jak je to tedy s ontogenezí termoregulace u rypošů?

(4) K práci V (str. 41): Nebezpečí přehřátí by paradoxně zabránila spíše vysoká teplota termoregulačního set pointu. Ta by zařídila vysoký rozdíl mezi tělesnou teplotou a teplotou prostředí. Naopak snížení teploty je vlastně nejjednodušším evolučním řešením, jak snížit metabolismus a tedy příjem potravy. Ví se ale něco o tom, zda rypoši a jejich tkáně tolerují nižší nebo stejné maximální teploty, jako savci s vyšší tělesnou teplotou.

Závěrem konstatuji, že hodnocená disertační práce odpovídá nárokům, které jsou na kvalifikační práce tohoto typu obvykle kladený na přírodovědeckých fakultách Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích i Univerzity Karlovy v Praze. Bez váhání jí tedy doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 10.12.2014

Daniel Frynta





UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PHYSIOLOGICAL ECOLOGY Lab.
CC1245, Mar del Plata, ARGENTINA

Mar del Plata, December 6, 2014.

Dear Committee for PhD studies in Physiology and Developmental
Biology study programme Faculty of Science
University of South Bohemia

Here are my comments on the PhD Thesis of Jan Okrouhlík, submitted by Dalibor Kodrík, entitle "Mammalian energetic savings in subterranean environment. The case of African mole-rats".

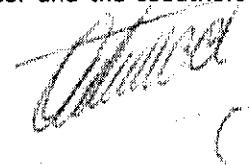
I found the thesis really interesting. It gives a significant contribution to the knowledge of the biology of subterranean rodents and energetics as a research field. I have no mayor comment on the way the author addresses some questions regarding energetics, ecology and life history traits of subterranean rodents. The introduction section as well as different topics developed before, were clearly written and the theoretical framework appropriate and updated. Also I found no objections about the way in which the author focused these questions, and the methodology. So I further recommend the thesis for defence. The PhD Thesis includes published paper in renowned journals. However I found minor questions that I will develop below

- In the first paper, entitled "Cost of digging is determined by intrinsic factors rather than by substrate quality in two subterranean rodent species", to obtain RMR the temperature inside the metabolic chamber was kept at 25 °C. However, as can be noted in the paper "A seasonal difference of daily energy expenditure in a free-living subterranean rodent, the silvery mole-rat (*Heliosciurus argenteocinereus*; *Bathyergidae*)" another ambient temperature was used for measurement. Specifically in the sentence "The temperature inside the respiratory chamber was maintained at 27±1 °C which is within the thermoneutral zone of this species (Zelová et al., 2007)". Is 25 °C of Ta within TNZ? Could this difference lead to incur in some errors in the calculations including ratios?
- Is not clear how "Hard substrate" was prepared to obtain digging metabolic data. Was heavy soil sampled in the field and carried to the laboratory an entire sample of soil? If it was not performed in this way; how hard substrate hardness was reached?
- "To determine the cost of burrowing, a 60 cm long burrowing tube was filled with soil. To avoid changes in air pressure within the system during burrowing, a rod was inserted into the tube before filling, and then pulled out, so an air canal went through the entire soil column" However, if the digging chamber received air at 1093 mL/min, the air canal through the soil should have a volume equal to 1093 ml to avoid air pressure changes. Does the canal would not be of a size that would affect soil resistance during digging activity?
- In the second paper entitled "A seasonal difference of daily energy expenditure in a free-living subterranean rodent, the silvery mole-rat (*Heliosciurus argenteocinereus*; *Bathyergidae*)", authors claimed that the SusMS of mole-rats, ranging from 1.4 to 3.2 and falls among the lowest values recorded. However author can't sure that they quantified

the higher SusMS value which could be measured in a population of *Heliosciurus argenteocinereus*.

- In the third paper "Poikilothermic traits in Mashona mole-rat (*Fukomys darlingi*). Reality or myth?" How did the lineal segment with slope = 0, which includes and define TNZ, was found? There are different statistical approaches to do this, for example software can be downloaded from <http://waterlog.info>, or the R package named segmented.

I have nothing more to say regarding the thesis. It would be useful thinking in the previous questions, which are more oriented to some assertions made in some papers, to be answered during the defense of the thesis. Finally I congratulate the supervisor and the coauthors of the papers.



Dr. Daniel Antenucci
Professor of Physiology-Researcher
Universidad Nacional de Mar del Plata-CONICET



Oponentský posudek na disertační práci Jana Okrouhlíka „Mammalian energetic savings in subterranean environment. The case of African mole-rats“

Předložená práce je tvořena úvodní kapitolou a pěti publikovanými pracemi. Úvod čítá 12 stran včetně seznamu literatury, který obsahuje 49 prací. Většina žurnálů, ve kterých byly přiložené články zveřejněny, patří ke špičce ve svém oboru, což samo o sobě svědčí o vysoké kvalitě této disertační práce.

Jak vyplývá z názvu práce, studovanými organismy jsou savci z čeledi rypošovitých. Mezi savci představují rypoši skupinu adaptovanou na podzemní způsob života. Teorie evoluční ekologie nám říká, že specializace je obecně výhodná ve stabilním prostředí. V současném rychle se měnícím světě specialisté bohužel často figurují na předních místech v seznamech druhů ohrožených vyhubením. Získání informací umožňujících předpověď dopady globálních změn na populace těchto druhů tudíž představuje jednu z priorit současného biologického výzkumu. I když jsou podzemní druhy daleko lépe chráněny přímému vlivu klimatických změn než druhy žijící na povrchu, změna klimatu je spojena také s narušením mezidruhových interakcí a primární produktivity, čemuž se ani v podzemí není možné vyhnout. Navíc je specializace na podzemní způsob života spojena s omezenou mobilitou a prostorovou izolací, a tak je možné předpokládat, že jejich schopnost vyrovnat se s měnícími se podmínkami prostředí bude do značné míry záviset na plasticitě behaviorálních a fyziologických znaků. Z tohoto pohledu představuje práce Jana Okrouhlíka významný přínos. Během jeho doktorské práce se mu podařilo zjistit a publikovat informace o rozmanitých aspektech fyziologie a chování těchto zajímavých živočichů, které mohou být využity k jejich ochraně. Kromě ochranářského významu, práce přináší cenná data i pro budoucí srovnávací studie, které například testují predikce formulované na základě metabolické teorie ekologie. Navíc je potřeba zdůraznit, že řada výsledků byla získána přímo *in situ* v logisticky náročných podmínkách Afriky, což ještě zvyšuje jejich hodnotu.

I přes své nesporné kvality, musím zmínit i některá slabší místa práce, které jsem našel v úvodní pasáži. I když jsou rypošovití bezesporu jednou z nejjednodušších skupin savců, přece jenom bych na začátku práce očekával zasazení celého výzkumu do nějakého širšího kontextu, např. specializace k podzemnímu způsobu života nebo sociální uspořádání, pro který se rypoši nabízejí jako vhodné „modelové“ organismy. Co se týče použitých organismů, výzkum byl realizován na čtyřech z více než 20 druhů rypošovitých. V úvodu ale chybí informace o důvodech, proč byl výzkum realizován právě na těchto druzích. Podle jakých kritérií byly studované druhy vybrány? Dále mě trochu zmátklo použití terminologie ve vztahu k termoregulaci. Autor uvádí, že „extrémním případem heterotermie je ektotermie“, což podle mého názoru není. Hned v další větě se hovoří o termokonformitě u jednoho druhu, což vyvolává dojem, že termokonformita je nějak spojena s ektotermií. Může autor svá tvrzení nějak doplnit nebo vysvětlit?

K práci mám několik dotazů:

1. V závěru úvodní pasáže se autor věnuje možným vysvětlením relativně nízké hodnoty klidového metabolismu u rypošů. Mezi navrženými alternativami mi chybí tzv. hypotéza

životního tempa (pace of life), která může nízký metabolismus vysvětlit jako jednu z korelát „pomalu žijících“ druhů. Tato hypotéza by vysvětlovala i další specifické vlastnosti rypošů, jako je například jejich relativní dlouhověkost, vysoká úroveň péče o potomstvo nebo eusocialita. Proč autor nezmiňuje tuto hypotézu ve své práci?

2. Úvod disertace obsahuje jeden graf ukazující vztah mezi tělesnou teplotou a standardizovanými hodnotami klidového metabolismu u různých druhů rypošovitých. Vzhledem ke své rozdílné fylogenetické příbuznosti jednotlivé druhy nepředstavují nezávislé datové body. Jaký je vhodný metodický přístup pro ověření vztahu mezi oběma znaky na mezidruhové úrovni?
3. Další dotazy jsou opět metodického rázu. Proč jste měřili klidový a nikoliv basální metabolismus?
4. V průtokové respirometrii je zásadní podmínkou udržení konstantní rychlosti proudění vzduchu napříč měřícím systémem. Tato informace v publikovaných pracích chybí. Jakým způsobem jste ověřovali tuto důležitou podmíinku?
5. Pro získání nejnižší hodnoty klidového nebo bazálního metabolismu se u hlodavců doporučuje minimální doba měření okolo čtyř hodin. U rypošů jste ve všech případech použili kratší dobu. Ověřovali jste experimentálně, že je tato doba dostatečná k získání nejnižší hodnoty? Byla měření metabolismu u jiných druhů rypošovitých získána stejným způsobem?

Je zapotřebí zdůraznit, že uvedené dotazy žádným způsobem nesnižují vysokou kvalitu předložené disertační práce, ale byly formulovány spíše s cílem doplnění některých informací nejenom pro zvídavého oponenta, ale i další potenciální zájemce o studovanou problematiku. Závěrem mohu pouze konstatovat, že disertační práce Jana Okrouhlíka splňuje všechna kritéria požadovaná na tento typ výstupu. Proto doporučuji jeho disertační práci k obhajobě.

Ve Studenci 8. prosince 2014

Mgr. Lumír Gvoždík, Ph.D.

