

Oponentský posudek disertační práce

„Chladová odolnost horských a nížinných motýlů“

Autor disertační práce: Mgr. Pavel Vrba

Školitel: doc. Mgr. Martin Konvička, Ph.D.

Posudek zpracoval: prof. RNDr. Zdeněk Laštůvka, CSc.

Mgr. Vrba předkládá výsledky rozsáhlého studia chladové odolnosti vybraných horských a nížinných druhů denních motýlů rodů *Colias* a *Erebia*. Celá práce má včetně nečíslovaných úvodních šesti stran 80 stran. Je postavena na třech již publikovaných vědeckých pracích, dvě z nich v časopise *CryoLetters* v letech 2012 a 2014 a zbývající v časopise *Journal of Entomological Science* v roce 2014. Publikovaným pracím předchází na 15 stranách velmi hezky zpracovaná, kompaktní informace o dosavadních poznatcích o chladové odolnosti motýlů a dalšího hmyzu, založená na reprezentativním souboru literárních zdrojů.

Konkrétním cílem disertační práce bylo zjistit body podchlazení a základní strategie přežívání nízkých teplot vybranými druhy motýlů, identifikovat při krátkodobých expozicích spodní letální teploty, testovat potenciální chladové poškození housenek a provést analýzy obsahu kryoprotektivních látek, podle možností vyhodnotit geografickou variabilitu v chladové odolnosti a výsledky porovnat s biotopovými nároky a možným ohrožením studovaných druhů.

Pokud jde o publikované výsledky ve třech zmíněných pracích, první z nich hodnotí chladovou odolnost housenek čtyř druhů rodu *Erebia* (*E. medusa*, *E. epiphron*, *E. sudetica* a *E. tyndarus*). Poněkud překvapivý výsledek, tj. že nejvyšší chladovou odolnost vykazuje nížinný druh *Erebia medusa* a naopak nejméně odolný je vysokohorský *E. tyndarus*, byl v publikaci logicky vysvětlen. Druhá z prací předkládá výsledky studia ekofyziologie přezimujících housenek alpské a rašeliništní populace *Colia palaeno*. U studovaného druhu byla zjištěna vysoká chladová odolnost, současně se obě hodnocené populace značně lišily obsahem kryoprotektivních látek. Poslední studie se zabývá chladovou odolností čtyř (pěti) střeoevropských druhů rodu *Colias*, žijících v různých nadmořských výškách a obývajících rozmanité biotopy – *C. palaeno*, *C. phicomone*, *C. hyale*, *C. australis* (*C. crocea*). Nejnížší hodnoty bodu podchlazení byly zjištěny u *Colias palaeno*, hodnoty pro ostatní druhy částečně korelovaly s výsledky pro druhy rodu *Erebia*, částečně odrážely mikroklimatické podmínky míst přezimování housenek. (V abstraktu práce je jako autor *Colia crocea* uveden Geoffroy, ale v textu Fourcroy, čehož si patrně nevšimli recenzenti).

Dosažené výsledky jsou poměrně rozsáhlé, publikační výstupy kvalitní. Autor ve spolupráci se svými spolupracovníky získal řadu velmi pozoruhodných, zajímavých a prioritních výsledků, které lze využít ve vědě i praktické ochraně biodiverzity.

Disertační práce je pečlivě zpracovaná, přehledně a čtivě napsaná. Nemám k ní žádné zásadnější formální ani odborné připomínky, připojuji jen několik drobných výtek, které bych v jinak zaměřené práci ani neuváděl, ale práce je o motýlech:

- *Gynaephora groenlandica* není mûra, ale štětconoš (str. 3).
- Staudinger (1861) popsal „*sudetica*“ v rodu *Erebia* (i když jako formu), patří proto bez závorek (str. 4, 13, 15).

- *Lobesia botrana* je obaleč, nikoli zavíječ (str. 4).
- *Sarcophaga* je masařka, nikoli moucha (str. 6) a *Eurosta* je vrtule (str. 7).

A tři drobné formální (formulační, typografické) poznámky:

- V úvodu autor píše, že ve 2. polovině 20. století dochází k výraznému úbytku denních motýlů díky dalekosáhlým změnám v zemědělství a lesnictví, tzn. že autor je rád, že k tomu dochází? (znovu obdobné formulace na str. 10 a 11).
- Na str. 6, řádek 8 se zdá, že věta měla nějak pokračovat „...jsou velmi významné v oblastech“.
- Autor nerozlišuje psaní jednotek ve smyslu podstatného a přídavného jména např. procent × procentický (5 % × 5%), stupňů × stupňový nebo metrů × metrový, tj. nepravidelně píše jednotky s mezerou nebo bez ní nezávisle na kontextu.

Závěr

Mgr. Pavel Vrba ve své disertační práci splnil stanovené cíle a k jejich dosažení využil odpovídajících moderních metod. Získal řadu původních vědeckých poznatků, týkajících se chladové odolnosti, resp. některých ekofyziologických vlastností motýlů, které průběžně publikoval ve vědeckém tisku. Tím přispěl k rozvoji vědních oborů ekologie (ekofyziologie) a entomologie. Celkově hodnotím disertační práci jako velmi kvalitní a ucelené dílo. Nemám k ní žádné podstatné připomínky a doporučuji ji proto k obhajobě a po jejím obhájení doporučuji udělit Pavlu Vrbovi titul „Doktor“ ve zkratce Ph.D.

V Brně dne 15. 2. 2015



Oponentský posudek na disertační práci

Mgr. Pavel Vrba: **Chladová odolnost horských a nížinných motýlů**

Oponent: Vladimír Košťál
Biologické centrum AVČR, Entomologický ústav a
Jihočeská Univerzita v Č.B., Přírodovědecká fakulta

Formální stránka:

Formální členění předložené diplomové práce je obvyklé. Práce sestává ze tří publikovaných článků, společného úvodu (15 stran), shrnutí (1 strana), perspektiv (1 strana) a dodatku (1 strana). Úvodní kapitola se odkazuje na 89 literárních zdrojů.

Připomínky:

1. Jazyk práce. Články jsou (samozřejmě) v angličtině. Další části jsou však nejednotné, psané česky nebo anglicky.
2. Články i pasáže psané anglicky mají velmi dobrou úroveň gramatiky a stylu. Po stylové stránce jsou lepší než pasáže české.
3. Gramatické chyby a překlepy jsou, ale v míře, která je akceptovatelná.
4. Grafická stránka práce je standardní.

Formální stránka práce se dá hodnotit jako dostatečná.

Věcná stránka:

Věcné jádro disertace tvoří tři publikované články, které vyšly v časopisech: 2x CryoLetters (IF = 0,767) a 1x Journal of Entomological Science (IF = 0,462). Autorský podíl uchazeče na vypracování všech tří článků byl nepochybně zásadní. Navíc je doplněna jedna tabulka, která shrnuje dosud nepublikovaná předběžná data o přežití inokulativního zmrznutí u 18 jedinců tří druhů motýlů.

Obecná připomínka:

Téma práce a modelová skupina (denní motýli) jsou zvoleny velmi dobře. Cíle práce jsou ambiciózní. Předložený výsledek ovšem naznačuje, že tento potenciál se podařilo využít jen zčásti. Vypadá to, že z původního koncepčního záměru bylo třeba slevovat a tak nakonec název disertace říká, že jde o studii chladové odolnosti vybraných druhů motýlů, respektive jejich přezimujících stádií. Názvy článků ještě naznačují, že původní motivace byla trochu jiná: hledat obecnější vztahy mezi chladovou odolností jednotlivých druhů a jejich rozšířením na gradientu nadmořské výšky. A skutečnou hlavní ambici práce potom odhaluje kapitolka Cíle práce na str.

16: "Zjištěné výsledky dát do kontextu rozšíření a biotopových nároků jednotlivých druhů (a populací) a jejich potenciálního ohrožení v důsledku možných environmentálních nebo biotopových změn."

Na to, aby studie výrazněji přispěla k rozvoji oboru chladové odolnosti hmyzu, jsou získaná data příliš triviální a fragmentární. Význam získaných dat pro poznání biotopových termálních nároků každého jednoho studovaného druhu (což má praktický význam zejména z hlediska ochranného) je rovněž spíše omezený. A pro odhalení obecnějších ekologických principů, které platí pro vztah mezi termální biologii druhu a obsazováním jednotlivých nik (například podle výškového gradientu), pak zase chybí nějaká zřetelná testovatelná hypotéza a zejména chybí data získaná na mnohem větším spektru druhů nebo populací na onom výškovém gradientu. Stručněji a jasněji, na specializovanou práci z oboru chladové odolnosti je studováno až příliš mnoho druhů, příliš povrchními metodami. Na obecnější ekologickou práci zase příliš málo druhů (populací), při absenci jednotlicí hypotézy. Nebo ještě jinak, disertace měla zřejmě těžit z interdisciplinarity ekologie a fyziologie, ale uvízla kdesi uprostřed ...

Konkrétní připomínky:

1. Úvodní text se z větší části týká obecné teorie chladové odolnosti hmyzu. Lze kladně hodnotit, že text je poměrně kompletní, že tedy zmiňuje většinu důležitých principů. Na druhé straně, text je dosti povrchní, na mnoha místech dochází ke zdánlivě jemným, často jen stylisticky neobratným posunům v definicích a významech, které jsou ovšem v literárním žánru vědecké práce nežádoucí. Výčet detailů by byl dlouhý, uvádím jen některé termíny, které jsou definovány ne zcela jasně nebo s mírným posunem významu:

- bod mrznutí vs. bod podchlazení (přesné definice, v čem je rozdíl);
- charakter a účinek nukleátorů ledu (jsou pouze ve střevě?);
- role kryoprotektantů (nízkomolekulárních);
- role specifických proteinů s účinkem na fázové chování vody;
- osmotická dehydratace buněk v souvislosti s mrznutím tělní vody;
- cukry jako ochrana membrán při mrznutí (jak?, všechny?, pouze?);
- kryoprotektivní dehydratace byla objevená u chvostoskoků (ne, u kokonů žížal);
- princip kryoprotektivní dehydratace, role trehalózy;
- SCP jako charakteristika druhu (ne, spíše char. populace a aklimatizačního stavu, plus značná stochasticita);
- mortalita nad bodem mrazu (nebo spíše nad bodem SCP?);
- změny konformace proteinů - zčásti pravda, bez upřesnění příliš vágní a nepravdivé;
- poškození lipidů v membránách - velmi nepřesné;
- faktor času při chladovém poškození: správně, ale faktor má dva rozměry: doba a frekvence (opakování - pravidelné vs. náhodné);
- mikrostanoviště: "voda" (?) jako nukleační faktor;
- plasticita strategií: její existence není s otázkou ("může být"), ale s vykřičníkem ("byla" popsána u mnoha druhů, neboli "je");
- sezónní změny - zcela chybný odkaz na Lee et al. 1987 (to je RCH);
- FTR, vysvětlování principu kladného účinku v souvislosti s vývojovým prahem (?);
- opravy proteinů jako princip chladového poškození (jak?, nic jiného se neděje?);

- pasáž o evoluci strategií: pouze poznámka: dosavadní pokusy o meta-analýzu a shrnutí vycházejí z nedostatečně přesného zjišťování tzv. "freeze-tolerance" u naprosté většiny druhů (podobně jako ve třech člancích, které jsou součástí této disertace).

2. Předposlední pasáž úvodu o klimatickém kontextu měla využít výše uvedené poznatky o termální biologii hmyzu a zasadit je do širšího kontextu klimatických změn (plus antropogenních vlivů) a z nich vyplývajících změn v areálech rozšíření jednotlivých druhů. Toto mělo zřejmě být hlavní těžiště disertace. Autor sice uvádí příklady různých studií, ale jaksi izolovaně. Spíše se měl pokusit o syntézu a položit základní koncepční otázky typu: Nakolik je druhová diverzita stanoviště určena právě jeho termálními poměry (v porovnání s jinými abiotickými a biotickými faktory)? Které parametry termálních poměrů je potřeba uvažovat (celkové teplo jako měřítko energie, teplotní extrémy, míra fluktuací, pravidelnost, ...)? Jak se tyto termální poměry vyvíjejí v čase (= klimatická změna)? Nakolik je právě chladová odolnost v rámci celé termální biologie druhu tím principem, který determinuje jeho areál výskytu (= budou se druhy šířit nebo ustupovat během klimatické změny?).

3. Denní motýli jsou neobyčejně vhodnou hmyzí skupinou pro řešení výše uvedených otázek z mnoha různých důvodů. Tyto důvody asi také měly zaznít v úvodu jasněji. Namísto toho je poslední pasáž Úvodu o studovaných druzích spíše popisná. Stylem a typem informací z velké části patří do Materiálu a metodik.

4. Literární odkazy nejsou vždy úplně trefné. Výběr citací působí dosti náhodně. Nešvarem je využívání referencí na spíše sekundární práce, bez odkazů na primární nebo skutečně významné práce. Zastoupení novější literatury je slabé.

5. Články č. I. až III mají v podstatě jednotnou metodiku, která je založena na sběru jedinců (rodičovské generace nebo přímo studovaných housenek) v přírodě na různých lokalitách, podzimní aklimatizaci v klecovém venkovním chovu, následnou aklimaci v konstantních laboratorních podmínkách (5°C, stálá tma), a změření několika základních parametrů: bodu podchlazení, LLT, Lt50 a navíc, v jedné práci, také obsahu cukerných látek a polyolů. Kromě obecných připomínek formulovaných výše, mám tyto konkrétní připomínky k metodice práce.

- Druhy sbírané z různých biotopů (nadmořských výšek) mají pravděpodobně různé specifické nároky na přezimování. Pokud jsou tedy všechny aklimatizovány a aklimovány za stejných laboratorních podmínek, nemusí jim tyto všem stejně vyhovovat.
- Chladová odolnost jedince se dynamicky mění během přezimování, a to i za konstantních laboratorních podmínek. Není jisté, že naměřené hodnoty vždy znamenají maximum.
- Vlivem dvou výše uvedených faktorů je možné, že popsání hodnoty chladové odolnosti u jednotlivých druhů jsou navzájem porovnatelné jen s velkou opatrností. Pro zjištění skutečné relevantní míry chladové odolnosti jakékoli populace je třeba kombinovat testy jedinců sbíraných v průběhu celého zimování v přirozených podmínkách s laboratorními aklimačními testy.
- Testy přežívání po zmrznutí byly provedeny takovým způsobem, který nedovoluje jednoznačně určit nebo vyloučit strategii freeze-tolerance. Promrznutí při teplotě

odpovídající SCP je obvykle letální, zatímco promrznutí téhož jedince po inokulativním zmrznutí za vyšších teplot je často neletální (jak nakonec ukazují i data v Appendixu).

- Kritérium pro přežití bylo zvoleno příliš slabě (spontánní pohyby 24 hod po expozici v chladu) z hlediska převážně ekologického zaměření práce. Možné bylo sledovat schopnost projít metamorfózou a dokončit vývoj. Optimální by bylo navíc sledovat fitness přeživších jedinců.

Shrnutí:

Přes kritický tón oponentního posudku si celkově myslím, že předložená práce splňuje požadavky PřF JČU na disertační práce a doporučuji ji přijmout jako podklad pro obhajobu.

V Českých Budějovicích
dne 2. února 2015



Vladimír Košťál