

## Oponentský posudek

**na diplomovou práci nazvanou „Nový případ smíšené reprodukční strategie a její adaptivní význam u neotropického termita *Silvestritermes minutus* (Termitidae: Syntermitinae)“ předloženou Bc. JANEM KŘIVÁNKEM katedře ekologie Přírodovědecké fakulty UK v Praze**

### Výchozí stav, význam a aktuálnost práce

Experimentální část předložené práce byla z větší části provedena na Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR v Praze a tematicky navazuje na výsledky badatelského týmu vedeného dr. Robertem Hanusem, který se ve spolupráci s francouzskými a belgickými termitology už řadu let mj. věnuje výzkumu v oblasti chemické, populační a potravní ekologie především neotropických termitů<sup>1,2,3,4</sup>. Terénní sběry byly provedeny během čtyř návštěv stanice ve Francouzské Guyaně během tří let.

Práce Jana Křivánka logicky navazuje a doplňuje paletu získaných poznatků z reprodukční biologie a ekologie termitů pokusem o hlubší vhled do rozmnožovacích strategií tohoto společenského hmyzu, a to terénním studiem smíšené reprodukční strategie druhu *S. minutus*. Zásadní objevy týkající se tohoto málo probádaného způsobu rozmnožování, které kombinuje výhody pohlavního rozmnožování a thelytokní partenogeneze, se teprve v nedávné době podařily učinit díky rozvoji genetických metod v populační ekologii.

Dlouho se myslelo, že se tento originální reprodukční systém, jež umožňuje pokračování geneticky identických generací královen po smrti královny primární, vyskytuje jen u blanokřídlých (původně byl popsán jen u mravenců v kapských včel), zcela nedávno však bylo zjištěno, že se vyskytuje i u tak fylogeneticky vzdálené eusociální skupiny jako jsou hemimetabolní termiti. Schopnost thelytokní partenogeneze byla u nich prokázána už dříve, ale dlouho se jí nepřisuzoval velký význam v rámci životního cyklu kolonie, byla považována jen za fakultativní či nouzovou strategii<sup>5</sup>. Tento názor se změnil, když Matsuura a kol.<sup>6</sup> o 16 let později našli u termita druhu *Reticulitermes speratus* (Rhinotermitidae), místo jedné primární královny harém až několik set neotenických královen nymfálního původu spolu s primárním králem. Další výzkumy ukázaly, že jde v podstatě o pravidelný jev v rámci životního cyklu kolonie, který zvyšuje její reprodukční schopnost. Střídání pohlavního procesu a thelytokní partenogeneze (AQS, *Asexual Queen Succession*), jež umožňuje pokračování geneticky identických generací královen po smrti královny primární, bylo původně pozorováno jen u jediného rodu nižších termitů *Reticulitermes*. Výzkumnému týmu, s nímž diplomant ve Francouzské Guyaně spolupracoval, se však nedávno podařilo popsat AQS u dalších čtyř druhů ze dvou podčeledí vyšších termitů<sup>1,3</sup>. Jedním z nich je i *S. minutus*, který se stal modelovým druhem pro oponovanou práci, jež si vytkla za cíl provést u tohoto druhu hlubší analýzu smíšené strategie AQS. Hlavní náplní práce je slovy autora: „Komplexní studium přírodních kolonií tohoto druhu se zvláštním zřetelem na jednotlivé dílčí cíle:

- (i) studium sociální struktury a životního cyklu kolonií v kontextu sezónních a ekologických faktorů;
- (ii) ověření hypotézy o vlivu příbuzenského výběru na poměr pohlaví a investici do okřídlených pohlavních jedinců u druhů s AQS;
- (iii) analýza pohlavního dimorfismu u okřídlených pohlavních jedinců;
- (iv) studium ontogenetického původu jednotlivých typů královen;
- (v) interpretace genetické struktury kolonií s ohledem na vznik jednotlivých typů pohlavních a sterilních jedinců;

(vi) srovnání reprodukční strategie *S. minutus* s ostatními druhy vyšších termitů a diskuse jejího významu pro *life history* druhu.

Splnění těchto cílů rozšíří znalosti o doposud málo prozkoumaném jevu smíšené reprodukční strategie u modelového druhu ze skupiny vyšších termitů.

## **K obsahu**

Formálně je práce členěna na 6 kapitol.

(1) První kapitola stručně ale výstižně **uvádí** čtenáře do problematiky eusociálního způsobu života termitů, definuje jednotlivé kasty a vysvětluje rozdíly mezi primárními a sekundárními pohlavními jedinci u vyšších a nižších termitů. Dále podává přehled dosud kusých znalostí smíšených reprodukčních strategií u společenského hmyzu, jmenovitě u blanokřídých a termitů, na nichž vysvětluje fungování thelytokní partenogeneze královen (AQS) jako alternativního způsobu reprodukce kolonií. Kapitola je uzavřena pohledem na Hamiltonovu teorii příbuzenského výběru a její genetické implikace projevující se poměrem pohlaví disperzních jedinců. K pochopení dalších oddílů diplomky nedoporučuji tuto kapitolu přeskochit.

(2) V další kapitole jsou **Cíle práce** stručně a srozumitelně definovány a již jsem se o nich zmínil výše.

(3) Při čtení kapitoly **Metodika** musí čtenář obdivovat, jak veliký objem terénní i laboratorní práce bylo třeba vynaložit ve snaze co nejpřesněji zdokumentovat bionomii vybraného druhu termita v přirozeném místě jeho výskytu a jak objemné bylo množství dat, která musela být shromážděna a vyhodnocena. Terénní práce zahrnovala širokou paletu metod a přístupů popsaných v 5 samostatných oddílech. Předpokládám, že je diplomant stručně představí a doplní fotodokumentací ve svém vystoupení, proto se jim jednotlivě věnovat nebudu. Zde bych chtěl jen poznamenat, že pro pochopení životního cyklu bylo podrobně prozkoumáno 164 kolonií během dvou hlavních období – maturačního a reprodukčního, a to ve třech po sobě následujících letech 2014–2016 během čtyř výprav na vědeckou stanici HYDRECO ve Francouzské Guyaně. Pozorování a rekonstrukce životního cyklu bylo založeno celkem na 85 koloniích, u nichž se podařilo shromáždit kompletní sadu potřebných údajů. Použité metodiky i způsoby vyhodnocování dat jsou popsány podrobně a vyčerpávajícím způsobem (na 10 str.).

(4) Stěžejní kapitola **Výsledky** probírá a shrnuje získané poznatky do šesti podkapitol. Podrobně se jimi také zabývat nebudu, autor je sám nejlépe představí ve svém vystoupení, pro krátké shrnutí jen uvedu, že vytčené cíle se podařilo bezesbytku naplnit: Autorovi se podařila

(i) rekonstrukce životního cyklu kolonie tím, že popsal a porovnal sociální struktury hnízd a jejich velikosti v obou fázích vývoje, tj. v maturační a reprodukční sezóně – zvláštní ocenění zaslouží velmi instruktivní obrázek č. 4, ilustrující charakteristické složení sociální struktury kolonií podle kategorií použitých v práci a dedukce zobecňující životní cyklus druhu (**4.1.4**) na základě údajů vycházejících z pozorování všech podrobně zkoumaných kolonií;

(ii) při testování hypotézy o příbuzenském výběru a asymetrické investici do alátů studie došla k závěru, že „u *S. minutus* je na populační úrovni investice do obou pohlaví vyvážená, což odpovídá zjištěné nepřítomnosti kolonií s inbrední genetickou strukturou pohlavních jedinců, která by mohla být motorem pro asymetrickou produkci alátů“ (**4.2**) ;

- (iii) studium sexuálního dimorfismu alátů založené na morfometrické analýze ukázalo větší velikost samic (ve všech sedmi měřených strukturách s výjimkou délky tibie) i jejich větší hmotnost (4.3).
- (iv) při studiu ontogenetického původu neotenických královen založeném na přímém pozorování čerstvě rozebraných kolonií z terénu, dlouhodobých pokusech s oddělováním nymf i na morfometrické analýze došel autor k závěru, že tyto sekundární reprodukční jedinci vznikají z nymf čtvrtého stadia (4.4);
- (v) genetická analýza, která byla provedena francouzskými kolegy na partnerském pracovišti v Paříži, potvrdila sexuální původ sterilních kast i okřídlených dospělců (alátů) a partenogenetický původ neotenických královen s vysokou mírou zachování heterozygotnosti, což ukazuje na automiktickou thelytokii s centrální fúzí (4.5);
- (vi) kapitolu výsledků uzavírají údaje o umístění hnízd, fyzikálních parametrech (hmotnost, rozměry, struktura, pH, R.H.) a kohabitaci s jinými termity, mravenci popř. dalšími termitofilními inkvilíny.

V relativně stručné (4 str.) kapitole **Diskuze** autor zdůrazňuje metodické přednosti pro studium dynamiky sociální struktury AQS u hojného druhu *S. minutus* se ztíženými podmínkami u těch několika málo jiných druhů vyšších termitů, kde AQS bylo zdokumentováno, a vyčísľuje důvody, proč je *S. minutus* ideálním modelem pro studium dynamiky strategie AQS (tj. strategie kombinující thelytokní partenogenezi pro produkci neotenických královen s pohlavním procesem pro produkci ostatních kast). Autor argumentuje, že jen díky možnosti detailně popsat životní cyklus u tohoto druhu mohl zjistit, že strategie AQS je u něho naprosto nezbytná, obligátně zakořeněna a ekologicky výhodná. Primární královna žije nejčastěji jen 12 až 18 měsíců, po kterých vždy dojde k jejímu nahrazení neotenickými královnami a teprve poté začne kolonie investovat do produkce disperzních jedinců. Dále diskutuje adaptivní význam AQS strategie a její nezávislý původ u tří případů, kde byla popsána. Zatímco u ostatních linií tato strategie funguje především pro prodloužení životnosti již úspěšné kolonie pomocí neotenických královen, které mohou vznikat po libovolně dlouhou dobu existence kolonie a činí tak genotyp primární královny potenciálně nesmrtelným, u druhu *S. minutus* má podle autora nahrazení zakladatelky odlišný význam. Namísto prodloužení života kolonie slouží AQS k co nejrychlejšímu populačnímu růstu v co nejranějším stadiu životního cyklu, po kterém následuje nejčastěji jediný, masivní rozmnožovací proces kolonie, tj. produkce maximálního množství okřídlených jedinců. Přestože kolonie po tomto masivním vyrojení pravděpodobně zaniká, stihne efektivně rozšířit svou genetickou informaci pomocí tisíců imag vyslaných do okolí zakládat nové kolonie. Hlavní význam strategie AQS u *S. minutus* tedy podle autora spočívá právě v maximálním urychlení životního cyklu s cílem co nejrychlejšího, byť jediného, rojení. Tato strategie se podle něj jeví jako optimální s ohledem na nízké kompetiční a obranné schopnosti druhu.

Zajímavá je i myšlenka, že tak jako došlo k evoluci AQS několikrát nezávisle na sobě, tak také mohou jednotlivé linie termitů využívat výhody AQS odlišným způsobem. Společným jmenovatelem pro známé AQS druhy vyšších termitů je jejich ekologický úspěch, což autor dokumentuje několika příklady rozšíření AQS druhů na mnohem větším areálu než mají jejich sesterské druhy, u nichž se tato strategie nevyvinula. Autor uzavírá diskuzi prognózou, že AQS strategie bude u termitů mnohem častěji zjištěna, až bude biologie a ekologie podrobena zevrubnému průzkumu u vícero druhů.

Kapitola **Závěry** shrnuje jasně a srozumitelně v šesti bodech výsledky diplomky a jejich interpretaci. Práce je doplněna **seznamem použité literatury**, který čítá 118 položek a **seznamem zkratk**. Součástí práce je také **příloha s podpůrnými daty**. Obsahuje fotodokumentaci hnízd s různou sociální strukturou, vnitřních pohlavních orgánů různých reprodukčních kast a názorné fotografické schéma nymfální vývojové řady. V pěti tabulkách jsou presentovány veškeré získané numerické údaje o jednotlivých hnízdech a jejich obyvatelích, jmenovitě parametry 85 hnízd použitých pro rekonstrukci životního cyklu *S. minutus*, počty nymf, alátů a funkčních pohlavních jedinců v koloniích v reprodukčním a maturačním období, a konečně i hmotnost alátů a míry morfologických znaků použitých pro morfometrickou analýzu. Teprve při prohlídce těchto tabulek si čtenář plně uvědomí obrovský objem dat, která musela být autorem shromážděna a vyhodnocena.

### **Oponentské připomínky a náměty do diskuse**

Předně bych chtěl vyzvednout dobrou úroveň češtiny a velmi srozumitelné podání textu, který není v žádném případě odpočinkovým čtením. Pokud jsem několik málo drobných prohrěšků našel, opravil jsem je tužkou přímo do textu.

Předpokládám, že se chystá publikace výsledků v mezinárodním vědeckém periodiku, je už rukopis na cestě? Ve zjednodušené formě bych doporučoval zajímavé výsledky diplomky publikovat také česky, třeba jako populární článek.

Dále mám několik otázek pro doplnění nebo do diskuse: Vysvětlení chemické podstaty kastové diferenciace na str. 13 je poněkud nejasné. Ví se opravdu tak málo o sociálních feromonech termitů?

Str. 52: Co je míněno „překážkou“ ve větě „Kolonie byly ... postaveny v těsné blízkosti nebo přímo na překážce“?

Používáním 1. os. mn. č., se autor netají, že zejména terénní sběr dat i laboratorní vyhodnocení je výsledkem kolektivního úsilí. Bylo by proto na místě, kdyby komisi stručně charakterizoval stupeň své účasti a svůj dominantní příspěvek k výsledkům uveřejněným v diplomce. Předpokládám, že pan diplomant byl jednou z vůdčích osobností při řešení fascinující otázky smíšené reprodukční strategie a jejího adaptivního významu u tohoto abundantního druhu neotropického vyššího termita.

### **Závěrečné prohlášení**

Je mi potěšením konstatovat, že jak po formální, tak i obsahové stránce práce zcela odpovídá standardům kladeným na diplomovou práci a v některých parametrech je dokonce výrazně přesahuje. Impresivní je především objem dat, která shromáždil a vyhodnotil. Svědčí to nejen o jeho odborné erudici a schopnosti využít experimentální zázemí v laboratořích, kde mu byla práce umožněna, ale i o koncepční ujasněnosti a výzkumné vizi vedení tohoto pracoviště. Disertant prokázal nad vší pochybnost, že je schopen definovat, řešit i vyhodnotit vědecký problém a výsledky patřičným způsobem komunikovat. Mohu proto vyslovit následující

### **závěr.**

Předložená písemná **diplomová práce** bc. Jana Křivánka „**Nový případ smíšené reprodukční strategie a její adaptivní význam u neotropického termita *Silvestritermes minutus* (Termitidae: Syntermitinae)**“ **splňuje podmínky** kladené na diplomovou práci, a proto ji **doporučuji přijmout k obhajobě.**

Zákolany, 2. září 2016.

.....  
Prof. RNDr. Jan Žďárek, DrSc.

- (1) Fougeyrollas, R., Dolejšová, K., Sillam-Dussès, D., Roy, V., Poteaux, C., Hanus, R. & Roisin, Y. (2015). Asexual queen succession in the higher termite *Embiratermes neotenicus*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Science*, 282: 20150260.
- (2) Fournier, D., Foucaud, J., Loiseau, A., Cros-Arteil, S., Jourdan, H., Orivel, J., ... & Estoup, A. (2005). Characterization and PCR multiplexing of polymorphic microsatellite loci for the invasive ant *Wasmannia auropunctata*. *Molecular Ecology Notes*, 5: 239-242.
- (3) Fournier, D., Hellemans, S., Hanus, R. & Roisin, Y. (2016). Facultative asexual reproduction and genetic diversity of populations in the humivorous termite *Cavitermes tuberosus*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Science*, 283: 20160196.
- (4) Hanus, R., Fougeyrollas, R., Dolejšová, K., Sillam-Dussès, D., Poteaux, C., Roisin, Y. & Roy, V. (2014). Asexual queen succession in the Neotropical higher termite *Embiratermes neotenicus*. XVII Congress of the International Union for the Study of Social Insects, 13.-1.7.2014, Cairns.
- (5) Stansly, P. A. & Korman, A. K. (1993). Parthenogenic development in *Velocitermes* spp. (Isoptera: Nasutiterminae). *Sociobiology*, 23: 13-24.
- (6) Matsuura, K., Vargo, E. L., Kawatsu, K., Labadie, P.E., Nakanoi, H., Yashiro, T., Tsuji, K. (2009) Queen succession through asexual reproduction in termites. *Science*, 323: 1687.