

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra filosofie a dějin přírodních věd



Diplomová práce v oboru Teoretická a evoluční biologie

**Vliv environmentálních proměnných na tvar
UV-reflektantní kresby u druhu
*Gonepteryx rhamni***

Pavel Pecháček

Školitel: Mgr. Karel Kleisner, PhD.

Akademický rok: 2011/2012

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně, jen s použitím citované literatury a pod dohledem vedoucího diplomové práce.

V Praze, dne 7. 5. 2012

Pavel Pecháček

Poděkování:

Děkuji svému školiteli Mgr. Karlu Kleisnerovi, PhD., za důvěru v mou práci, za inspiraci i za jeho věcné připomínky, které pomáhaly určovat její směr. Dále mu děkuji za seznámení s metodami geometrické morfometriky. Za pomoc se sběrem části dat děkuji Davidu Stellovi. Děkuji také Mgr. Petru Keilovi za pomoc se získáváním použitých environmentálních proměnných. Na závěr mé poděkování patří také všem členům Katedry filosofie a dějin přírodních věd za příjemné a inspirativní studijní prostředí.

Abstrakt

Mnoho živočišných druhů je citlivých k ultrafialovému světlu. Některé z nich mají na těle zvláštní struktury, které mohou světlo v ultrafialové oblasti spektra reflektovat. Takové struktury byly nalezeny u mnoha živočišných taxonů - jedněmi z nich jsou také motýli (Lepidoptera). Význam UV-reflektance u motýlů je spojován především s pohlavním výběrem a z tohoto hlediska se jím zabývá většina současných prací. Cílem této práce je nabídnout alternativní pohled na tento fenomén. Její snahou je odhalit, jak prostředí ovlivňuje tvaroprostor UV-reflektantní kresby a křídla u druhu *Gonepteryx rhamni* (Pieridae). Variabilita tvaru v závislosti na různých environmentálních proměnných (latituda, longituda, altituda, průměrná roční teplota, průměrné roční srážky, index zelenosti krajiny – NDVI, produktivita prostředí – NPP) je studována pomocí metod geometrické morfometrie. Práce se také zabývá tvarovou rozdílností mezi pohlavími, jedinci z různých lokalit či tvaroprostorovou diferencí mezi poddruhy *G. rhamni*. Do analýzy bylo zahrnuto celkem 118 samců a 67 samic *G. rhamni* a několik poddruhů z celé Palearktické oblasti.

Pomocí mnohorozměrných regresí byl u samců prokázán vliv většiny sledovaných proměnných na tvarovou proměnlivost křídla a UV-reflektantní kresby. Nejvýznamnějšími faktory byly průměrné roční srážky a průměrná roční teplota. U samic byl vliv prostředí na změnu tvaru signifikantní pouze v případě latitudy a altitudy. Na menším území nebyl vliv většiny studovaných proměnných prokazatelný ani u jednoho pohlaví. Pomocí CVA byla prokázána také tvarová rozdílnost jedinců pocházejících z různých oblastí, dále pak rozdíl ve tvaru křídla v závislosti na pohlaví. Rozdílnost ve tvaru byla prokázána také u několika poddruhů *G. rhamni*.

Klíčová slova: UV-reflektance, fenotypová plasticita, environmentální faktory, geometrická morfometrie, mnohorozměrné regrese tvaru, *Gonepteryx rhamni*, Pieridae

Abstract

Many species are sensitive to a light in ultraviolet spectrum. Some species have surface patterns that reflect ultraviolet light. These markings have been observed in many animal taxa; butterflies (Lepidoptera) are no exception. UV-reflectance in butterflies has been primarily connected to sexual selection and in this respect it has been a subject of many studies. In my work I propose an alternative view to this phenomenon. The aim of my work is to reveal how a particular environmental factors influence the morphospace of UV-reflectant patterns and wing shape of the *Gonepteryx rhamni* (Pieridae). The effect of various environmental factors (latitude, longitude, altitude, mean annual temperature, mean annual precipitation, normalized difference vegetation index – NDVI or net primary productivity – NPP) on wing morphospace was tested using the methods of Geometric morphometrics. I have also studied shape variability among the males and females, specimens from different locations and differences in morphospace of several *G. rhamni* subspecies. The dataset used in this analysis includes 118 males and 67 females from the Palearctic ecozone.

The effect of almost all environmental (except to NDVI and NPP) predictors on shape of the UV-pattern and wing margin was significant in the case of males. In the case of females the only significant factors influencing the shape variability were the latitude and altitude. When dataset was divided to smaller geographical regions the effect of most variables was not observed. CVA revealed that there is a difference in shape among the specimens from different locations and that the variability of the wing differs between males and females. Shape differences were observed also in a few various subspecies of *G. rhamni*.

Key words: UV-reflectance, Phenotypic plasticity, Environmental factors, Geometric morphometrics, Multivariate regression of shape, *Gonepteryx rhamni*, Pieridae

OBSAH

1. ÚVOD	8
1.1. Historie odhalování citlivosti k UV v přírodě	9
1.2. Význam UV-reflektance v přírodě	12
1.2.1. UV-reflektance u motýlů (Lepidoptera)	13
1.2.2. Další případy UV-reflektance u bezobratlých	16
2. CÍLE PRÁCE	19
2.1. Shrnutí a hypotézy	22
3. MATERIÁL A METODY	23
3.1. Modelový druh – <i>Gonepteryx rhamni</i> – stručná charakteristika	23
3.2. Popis získávání vzorků	24
3.3. Environmentální proměnné	25
3.4. Metodika fotografování (a následná úprava fotografií)	26
3.5. Geometrická morfometrika	27
3.5.1. Tvarové proměnné – definice a použití	28
3.5.1.1. <i>Landmarky</i>	28
3.5.1.2. <i>Semilandmarky</i>	29
3.5.1.3. <i>Rozložení tvarových proměnných v datovém souboru</i>	29
3.5.2. Standardizace datového souboru	31
3.5.2.1 <i>Prokrustovská superimpozice</i>	31
3.5.3. Metody statistického zpracování dat	33
3.5.3.1. <i>Analýza relativních warpů (RWA)</i>	33
3.5.3.2. <i>Analýza kanonických variát (CVA)</i>	34
3.5.3.3. <i>Mnohorozměrná regrese tvaru (shape regression)</i>	35
4. VÝSLEDKY MORFOMETRICKÝCH ANALÝZ	36
4.1. Prokrustovská superimpozice	36
4.2. Analýza relativních warpů	37
4.2.1. RWA – samci	37
4.2.2. RWA – samice	40

4.3. Analýza kanonických variát	41
4.3.1. Rozlišení a priori určených poddruhů samců podle tvaru křídla	41
4.3.2. Srovnání obrysu samčího a samičího křídla	43
4.3.3. Tvarová diskriminace samců podle lokality původu	44
4.4. Mnohorozměrné regrese tvaru v závislosti na faktorech prostředí	46
4.4.1. Mnohorozměrné regrese tvaru – Samci, kompletní soubor	46
4.4.1.1. <i>Regrese tvaru samčího křídla na sledovaných proměnných</i>	49
4.4.1.2. <i>Násobné efekty provedených regresí</i>	53
4.4.1.3. <i>Mnohorozměrné regrese tvaru – Samci, Česká republika</i>	54
4.4.1.4. <i>Další výsledky mnohorozměrných tvarových regresí</i>	55
4.4.1.5. <i>Vzájemný vztah nezávislých proměnných – korelace</i>	57
4.4.2. Mnohorozměrné regrese tvaru – Samice, kompletní soubor	59
4.4.2.1. <i>Mnohorozměrné regrese tvaru – Samice, Česká republika</i>	61
5. DISKUZE	62
5.1. Variabilita tvaroprostoru křídla a UV-reflektantní kresby	62
5.2. Vliv prostředí na tvaroprostorovou variabilitu křídla a UV-reflektantní kresby	63
5.2.1. Zhodnocení navržených hypotéz	64
5.2.2. Další možné příčiny pozorované variability	66
6. ZÁVĚR	69
7. LITERATURA	71
8. PŘÍLOHY	80

1. Úvod

Slunce je až na několik výjimek nejvýznamnějším energetickým zdrojem života na Zemi. Na povrch naší planety z něj přichází elektromagnetické záření různých vlnových délek, z nichž jen velmi úzká část je patrná i lidskému zraku. Tato část se obvykle nazývá viditelným světlem. Vlnové délky viditelného světla se běžně udávají v rozmezí 400-750 nm. Světlo nad 750 nm (do 1 mm) se nazývá infračervené záření (IR) - to mohou vnímat například někteří plazi (Campbell et al., 2002). K Zemi přichází také záření o délkách kratších než 400 nm. Tento typ obvykle nazýváme ultrafialovým světlem (UV). Můžeme jej rozdělit do několika typů. Většina záření do 315 nm je ale pohlcena atmosférou, proto nás bude zajímat především typ UVA, tzv. dlouhovlnné UV záření, jehož vlnové délky mají rozsah od 315 (320) do 400nm. Člověk jej sice nevidí, existuje však mnoho živočichů, kteří k němu jsou citliví (Silberglied, 1979; Toveé, 1995), a dokonce jej mnohou využívají jako specifický komunikační kanál. Mezi takové živočichy patří jak některé skupiny bezobratlých (Pecháček et al., 2012), např. motýli (Brunton et Majerus, 1995), brouci (Pope et Hinton, 1977) či pavouci (Heiling et al., 2003), tak i mnozí obratlovci. Citlivost k ultrafialovému světlu byla studována zejména u ptáků (Stevens et Cuthill, 2007), v menší míře i u některých ryb (Losey et al., 1999) plazů (Fleishman et al., 1993) a obojživelníků (Perry et McNaughton, 1990), a dokonce i u některých menších savců (Jacobs et al., 1991; Winter et al., 2003). I u těchto skupin byla, krom obojživelníků a savců, studována možnost využití komunikace v ultrafialové části spektra jako specifického signálu (Hunt et al., 2001; Stoehr et McGraw, 2001). Citlivost k ultrafialovému světlu je obvykle umožněna posunem celého vnímatelného spektra k nižším vlnovým délkám nebo přítomností dalšího očního čípku citlivého k ultrafialovým vlnovým délkám. V rámci hmyzu je situace ohledně rozložení typů čípků i citlivosti k různým vlnovým délkám velmi různorodá (Briscoe and Chittka, 2001). Dobře je fenomén citlivosti zraku prozkoumán u ptáků, kteří mají na sítnici obvykle čtyři typy čípků. Podle čípku s citlivostí k nejkratším vlnovým délkám se rozdělují na dva typy. U prvního je maximum citlivosti daného čípku přibližně 355 nm, u druhého velmi lehce nad 400 nm (Vorobyev et al, 1998; Hart, 2001). Signalizace v ultrafialovém spektru je často umožněna zvláštními mikrostrukturami tělních povrchů, které odrážejí světlo určité vlnové délky (na

rozdíl od pigmentů, jež světlo určitých vlnových délek pohlcují). Pro fenomén odrazu ultrafialového světla se vžil název „UV-reflektance“. Ta má pro mnoho druhů velký eko-evoluční význam. U motýlů, pavouků, ryb, plazů či ptáků je tento znak důležitý především při námluvách a vyhledávání sexuálního partnera (viz dále), u ptáků může mít význam také při hledání potravy (Koivula et Viitala, 1999; Siitari et al., 1999). Ultrafialové kresby však nebyly poprvé objeveny u žádného živočicha, nýbrž na květech některých rostlin (Lutz, 1924), kde zastávají úlohu lákadla pro opylující hmyz.

1.1. Historie odhalování citlivosti k UV v přírodě

Tato práce se zabývá poměrně úzkým tématem. Na následujících řádcích se pokusím přiblížit historické pozadí dané problematiky, s uvedením prvních průkopníků i výčtem nejvýznamnějších objevů od pomyslného založení oboru. Tento historický exkurz slouží především jako prostředek k vytvoření komplexní představy o tématu citlivosti UV a významu UV-reflektance v přírodě.

Skutečnost, že někteří živočichové mohou být citliví k ultrafialovému světlu, byla poprvé popsána a zároveň experimentálně ověřena v 70. letech 19. století. Badatelem, který se o to zasloužil, byl anglický bankéř, politik a všestranný přírodovědec Sir John Lubbock, známý také jako Lord Avebury (1834-1913). John Lubbock pocházel z rodiny s dlouholetou bankéřskou tradicí, ale už od dob svých studií v sobě nezapřel velkou náklonnost k přírodním vědám. Na tom mělo bezesporu významný podíl jeho blízké přátelství s Charlesem Darwinem, se kterým se Lubbock přátelil již od raného mládí. John Lubbock se během svého života zabýval různými vědními oblastmi, od botaniky, geologie, archeologie, studia krajiny až po zoologii. V jejím rámci se intenzivně věnoval především studiu smyslů. Byl členem mnoha učených společností, z nichž mnohým předsedal, objevil také mnohé experimentální metody, které byly znovuobjeveny o mnoho let později. Je rovněž autorem pojmů paleolit a neolit. I přes rozsáhlé aktivity a široký záběr v mnoha oborech je dnes jméno John Lubbock dobře známé jen málokomu (Pumphrey, 1959).

Z hlediska citlivosti živočichů k ultrafialovému světlu je nejdůležitější Lubbockův spis *Ants, Bees and Wasps: A Record of Observations on the Habits of the Social Hymenoptera* (Mravenci, včely a vosy: zpráva o pozorování zvyků sociálních

blanokřídlých), který původně vycházel ve formě kratších pojednání (1874-1882), a konečně v roce 1882 také knižně (Lubbock, 1982a). Spis je věnován především mravencům, které Lubbock choval a zkoumal téměř deset let. Věnuje se například jejich sociální hierarchii, zvláště ale jejich smyslu, z nichž na první místo klade zrak. Lubbock experimentoval především se světlem a zkoumal reakce mravenců na různé vlnové délky. Tyto pokusy spočívaly v nasvícení mraveniště dvěma zdroji světla odlišné vlnové délky a pozorování reakce mravenců, zvláště pak, do které části mraveniště odnášejí své kukly. Z výsledků bylo patrné, že mravenci jsou schopni rozlišit vlnové délky ve smyslu kratší/delší a vykazují zvýšenou citlivost k ultrafialovému záření. V závěru knihy se Lubbock věnuje i smyslu u včel a vos a z výsledků pokusů vyvozuje, že včely i vosy jsou zřejmě schopny rozlišovat mezi barvami. Lubbock zkoumal zrak i u jiných živočichů a v knize odkazuje na své pokusy s hrotnatkou (*Daphnia*), u níž předpokládá podobnou citlivost zraku jako u mravenců, tedy včetně vnímání ultrafialového světla. (Lubbock, 1882b).

Výzkumu citlivosti živočichů k ultrafialovému světlu se až na pár výjimek v dalších letech příliš pozornosti nedostávalo. Dalším badatelem, který se v této problematice zasloužil o významný pokrok, byl americký entomolog Frank Eugene Lutz (1879-1943). Zpočátku se věnoval jako jeden z prvních studiu genetické variability octomilky (*Drosophila melanogaster*). Později se jeho vědecký zájem začal stáčet více k ekologii hmyzu, a obzvláště k významu zraku. Od dvacátých let se jedním z jeho hlavních témat staly ultrafialové kresby na květech rostlin a citlivost hmyzu k ultrafialové části spektra. Senzitivitu hmyzu k UV se mu podařilo prokázat již počátkem dvacátých let u octomilky (Lutz et Richtmeyer, 1922). Bez nadsázky průlomovou práci na dané téma publikoval v roce 1924 v ročence Newyorské akademie věd (Lutz, 1924). Hlavním tématem této publikace je přítomnost UV-kreseb na květech mnoha druhů rostlin. Ve spojitosti s tím pokračuje k otázce citlivosti hmyzu k ultrafialovému záření, kterou otevřel, jak sám zmiňuje, již Sir John Lubbock téměř padesát let před ním. Je přesvědčen, že hmyz k UV citlivý je a UV-kresby květů se nějakým způsobem podílí na lákání opylovačů. Význam UV pro orientaci hmyzu testoval v několika pracích v první polovině třicátých let (Lutz, 1933a; Lutz, 1934) a přesvědčivě v nich prokázal citlivost některých druhů blanokřídlých

k ultrafialovému světlu. Lutz dokonce poprvé dokázal trvale zaznamenat obrazy UV-reflektantních vzorů pomocí tzv. „dírkové komory“ (*pinhole camera*).

Už ve dvacátých a třicátých letech nasvědčovaly první indicie nejenom to, že některé druhy motýlů jsou citlivé k ultrafialovému světlu, ale že přímo na povrchu jejich křídel existují struktury, které odrážejí světlo v ultrafialové části spektra (Cockayne, 1924; Lutz, 1933b). Po přechodném ochabnutí zájmu o dané téma, se kresbami na křídlech motýlů začal zabývat v padesátých letech sovětský biolog G. A. Mazokhin-Porshnyakov, který studoval ultrafialové kresby na křídlech motýlů a zřejmě jako první k jejich vizualizaci použil klasickou fotografii (Mazokhin-Porshnyakov, 1957). V jeho stopách pak pokračoval ukrajinský entomolog Yuri P. Nekrutenko (1936 – 2010). I ten se zabýval UV-kresbou motýlích křídel a kladl zvláštní důraz na motýly rodu *Gonepteryx* (Nekrutenko, 1965). Studium UV-reflektance motýlích křídel se postupně rozšířilo i do Japonska, v pozdějších letech i do USA, Velké Británie či Finska.

V sedmdesátých letech se začalo dostávat pozornosti i významu citlivosti k ultrafialovému světlu u ptáků. První studie, které tento fenomén doložily u holuba (*Columba livia*) (Wright, 1972) a kolibříka (*Colibri serrirostris*) (Huth et Burkhardt, 1972), byly publikovány shodně v roce 1972. Ve stejném roce vyšla v časopise *Naturwissenschaften* i krátká zpráva upozorňující na citlivost k UV u obojživelníků, konkrétně u ropuchy (*Bufo bufo*) (Diez, 1972). V druhé polovině sedmdesátých let byla publikována i rozsáhlá studie mapující výskyt UV-reflektance v rámci řádu brouků (Coleoptera) (Pope et Hinton, 1977).

O významný rozvoj poznání tohoto fenoménu se v sedmdesátých letech minulého století zasloužil americký entomolog Robert Elliot Silberglied (1946-1982). Předmětem jeho odborného zájmu byli zejména motýli a od poloviny sedmdesátých let se zabýval také významem zbarvení, a zvláště UV-kreseb v pohlavním výběru (Silberglied, 1978). V roce 1979 publikoval rozsáhlou práci (Silberglied, 1979), ve které podal souhrn současného vědění o signalizaci v ultrafialovém světle. Od ultrafialových kreseb na květech rostlin a jejich významu pro jejich opylovače přechází k signalizaci výhradně v rámci hmyzu, se zvláštním důrazem na motýly a popis UV-reflektujících struktur na jejich

křídlech. V závěru práce se věnuje významu ultrafialového světla pro obratlovce, který byl tehdy studován sotva několik let.

Robert Silberglied se ve své době stal jedním z nejvýznamnějších badatelů na poli výzkumu signalizace v ultrafialovém světle. Jeho kariéru však předčasně ukončila letecká havárie v roce 1982.

Výzkum ale nezadržitelně pokračoval a od osmdesátých let bylo objeveno mnoho druhů citlivých k UV, případně přímo signalizujících pomocí UV-reflektantních vzorů (Toveé, 1995). V rámci bezobratlých jsou to mimo brouky a motýly i někteří pavouci. Citlivost k ultrafialovému světlu byla u pavouků zkoumána už od konce šedesátých let (DeVoe et al., 1969; DeVoe, 1975), ale fakt, že i oni mohou využívat UV-reflektance jako specifického signálu, se stal předmětem vědeckého bádání až v novém tisíciletí (Heiling et al., 2003; Heiling et al., 2005). A jak již bylo zmíněno v úvodu této kapitoly, citlivost k UV a UV-reflektantní vzory byly objeveny také u ryb či plazů a je zřejmé, že i někteří savci jsou k ultrafialovému světlu citliví. U nich je tato vlastnost nicméně poměrně vzácná a omezuje se na druhy menší, například některé hlodavce.

1.2. Význam UV-reflektance v přírodě

UV-reflektantní vzory nacházíme v přírodě u mnoha druhů, v rámci různých taxonů. Vzhledem k tématu této práce se zaměřím především na jejich výskyt a význam u bezobratlých živočichů, zejména motýlů. Stručně představím také UV-reflektanci u jiných druhů bezobratlých, které nám poslouží jako ukázka různých způsobů vzniku UV-reflektance a jejich různorodých významů v přírodě. Pro podrobnější informace o UV-kresbách obratlovců odkazuji zájemce na svou bakalářskou práci* a publikace citované k danému tématu v úvodu této práce - v následujícím textu se jim budu věnovat už pouze okrajově v souvislosti s bezobratlými.

* *Biologický výzkum v ultrafialové oblasti: evoluční a eto-ekologické implikace UV-reflektance organismálních povrchů*. Katedra filosofie a dějin přírodních věd. UK. 2010.

1.2.1. UV-reflektance u motýlů (Lepidoptera)

Motýli byli vůbec jedněmi z prvních živočichů, u kterých byla prokázána citlivost k ultrafialovému světlu (Crane, 1954) a také prvními zástupci živočišné říše, u kterých byly nalezeny struktury reflektující záření v ultrafialové části spektra. Později bylo zjištěno, že UV-reflektantní kresby na křídlech motýlů plní důležité funkce a často jejich samotná přítomnost či intenzita souvisí s různými ekologickými a evolučními faktory.

Ultrafialové kresby můžeme najít například u mnoha zástupců běláskovitých (*Pieridae*), některých babočkovitých (*Nymphalidae*) a u různých druhů nočních motýlů. Podobně jako v případě zbarvení pozorovatelného ve viditelném světle existuje u některých motýlů pohlavní dimorfismus také v charakteru ultrafialových kreseb. Je poměrně běžné, že kresby reflektující v UV nesou pouze samci, ale existují i druhy, u kterých je tomu právě naopak. UV-reflektující vzory mohou u motýlů zastávat mnoho rozličných funkcí. Jejich primární význam zřejmě spočívá v pohlavním výběru; při námluvách se stávají indikátorem pro výběr vhodného partnera (Kemp et Rutowski, 2007). UV-reflektantní kresby tedy slouží jako sekundární pohlavní znak a studium jejich funkce při vnitrodruhové signalizaci může ozřejmit jejich vznik či selekční tlaky, které na ně působí (Brunton et Majerus, 1995). Ke zmapování evoluce ultrafialových kreseb pak může dopomoci i molekulárně-biologická analýza. (Brunton, 1998)

Námluvy u motýlů obvykle probíhají pod iniciativou samců, kteří aktivně vyhledávají samice ke kopulaci. Samec nejprve hledá vhodnou samici pomocí zraku a následně už přichází na řadu signály chemické (Vane-Wright et Boppre, 1993; Takanashi et al., 2001). Samice si pak vybírají vhodného samce na základě několika aspektů. Jedním z nejdůležitějších je věk samce. Samice ve svém výběru upřednostňuje samce mladší, jelikož u nich je vyšší pravděpodobnost, že dosud nekopulovali. Samci totiž při opakované kopulaci poskytují menší množství ejakulátu než samci čerství (Rutowski et Gilchrist, 1986). To je velmi důležitý faktor, jelikož ejakulát je hlavní post-reprodukční investice samce do potomků. Samice jej absorbuje a živiny, které obsahuje, využije pro oogenezi (Boogs et Gilbert, 1979). Rutowski a Gilchrist (1986) ukázali, že samec, který již kopuloval, poskytuje v ejakulátu oproti čerstvému jedinci o 40% méně materiálu. Samice, které kopulovaly s nezkušeným samcem a dostaly více živin, snášely obvykle více vajíček a žily

déle. Navíc je potvrzeno, že „použitý“ samec kopuluje delší dobu, a zvyšuje tak riziko predace (Rutowski et al, 1987). Otázkou zůstává, jakým způsobem je samice schopna rozpoznat vhodného samce. Z výše uvedeného vyplývá, že by měl existovat významný selekční tlak na schopnost rozpoznávat mladší samce a UV-reflektantní vzory by mohly být právě tím faktorem, který pomáhá v jejich identifikaci (Kemp et al., 2008). V úvodu bylo popsáno, že UV-reflektance je způsobena zvláštními strukturami na povrchu křídla. Motýli nejsou schopni během života tyto struktury obnovit, a jelikož v průběhu života dochází k opotřebením, snižuje se i intenzita jejich reflektance (Kemp, 2006). Z toho vyplývá, že intenzita UV-reflektance by opravdu mohla indikovat věk samce, což podporuje fakt, že samice preferují samce s vyšší intenzitou UV-kresby (Kemp, 2007).

Z pohledu evoluční biologie tento fenomén poměrně dobře odpovídá hypotéze dobrých genů či hypotéze přímé výhody. Tyto hypotézy předpokládají, že samice preferuje takové znaky, jejichž přítomnost nějakým způsobem signalizuje kvalitu samce, respektive fungují jako indikátory kvality (Flegr, 2005), což je v našem případě intenzita UV-reflektance a její souvislost s předpokládanou kvalitou ejakulátu. S teorií dobrých genů souvisí fakt, že exprese takového znaku by měla být nákladná. Exprese znaku může být také například indikátorem kvality ontogeneze či zdravotního stavu jedince (Flegr, 2005).

UV-reflektance ale není výhradním znakem samců. Například u japonského poddruhu běláška řepkového *Pieris rapae crucivora* nalezneme ultrafialové vzory pouze na křídlech samic. Předpokládá se, že UV kresba na křídlech samice zaručuje samci její bezpečné rozpoznání od samců téhož druhu (Obara, 1970). Naopak samičky britského poddruhu *Pieris rapae rapae* v ultrafialovém spektru vůbec nereflektují (Obara et al., 2008). Britský poddruh tak při rozpoznání samice musí využívat jiný mechanismus, poprvé popsáný u japonského poddruhu, a tím je tzv. „flutter response“; pokud je samec sledován samcem stejného druhu, dá mu intenzivním zamáváním křídel na srozuměnou, že se jedná o samce téhož druhu a k pokusům o spáření nedochází (Obara et Majerus, 2000). Jak jsem zmínil výše, samčí ejakulát je při opakované kopulaci výrazně chudší, takže na schopnost rychle a bezpečně rozpoznat samici vhodnou k páření působí silný selekční tlak.

V souvislosti s kresbami viditelnými pouze v ultrafialovém světle je nutné zmínit jednu důležitou vlastnost, a to je jejich možná nápadnost pro predátory. Hlavními predátory motýlů jsou ptáci. A právě mnozí ptáci jsou také citliví k ultrafialovému světlu (Rajchard, 2009; Hunt et al., 2001). Vliv přítomnosti UV-reflektantních vzorů na pravděpodobnost predace testoval například Lyytinen et al. (2004). Výsledky této práce sice ukazovaly na zvýšenou pravděpodobnost predace u denních motýlů s UV-kresbou, do výsledků však nebyla zahrnuta i závislost této pravděpodobnosti na ostatních barvách křídla. Pozoruhodné zjištění této práce ale je, že v souboru zkoumaných motýlů byla UV-reflektance nalezena u přibližně 25% denních druhů a u více jak tří čtvrtin druhů nočních. Denní predátoři motýlů se obvykle při vyhledávání kořisti řídí zrakem, a přítomnost UV-kresby tedy může pro jeho nositele představovat v tomto ohledu nevýhodu a být pod výrazným selekčním tlakem ze strany predátora. Pokud se na uvedený fenomén opět podíváme z hlediska evoluční biologie, je patrné, že UV-reflektantní kresba by mohla být pro jejího nositele handicapem. Podle Zahaviho (1975) teorie handicapu bychom pak mohli dovodit, že UV-reflektance působí jako znevýhodnění pro nositele, a samec s nejasnější či největší kresbou by tedy tímto způsobem signalizoval svou schopnost přežít i s takovým handicapem. Ovšem je nutno si uvědomit, že se prozatím jedná o netestovanou hypotézu, a i pokud by byla prokázána její platnost, nemohla by v mnoha případech přítomnost UV-reflektance vysvětlit.

Dalším příkladem je to, jaký vliv mají UV-reflektantní vzory a přítomnost ultrafialových vlnových délek v prostředí na účinnost vyhledávání kryptické kořisti ptáky. Podle některých prací ultrafialové světlo opravdu pomáhá predátorům v rychlosti vyhledávání kořisti (Church et al., 1998a). Velký význam zde zřejmě hraje kontrast s okolním prostředím. Zajímavým příkladem je UV-reflektance u housenek dřevobarvce lesního (*Lythophane ornitopus*), který se jinak ve viditelném světle jeví krypticky. Je možné, že v tomto případě ultrafialový vzor spíše než ke krypsi odkazuje k UV-reflektanci jako aposematickému signálu (Church et al., 1998b). Na druhou stranu nesmíme zapomenout na fakt, že ve vzduchu dochází k určitému rozptylu ultrafialového světla (Lythgoe, 1979) a na větší vzdálenost nemusí být kresba pro predátora tak nápadná a že u hmyzu podobně jako u ptáků fungují ultrafialové vzory především jako signál na krátkou vzdálenost (Hunt et al., 2001).

V souvislosti s viditelností ultrafialových kreseb pro predátora se nabízí ještě jedna funkce, kterou mohou tyto vzory zastávat. Jedná se o jejich souvislost s parciální mimezí. Tento typ mimikry se vyznačuje tím, že živočich není mimetizován celý, ale pouze některá jeho část (Komárek, 2004). Parciální mimeze se v tomto případě nabízí v souvislosti s tzv. falešnými „očními skvrnami“ na křídlech okáčů (Satyrinae). Tradičně se předpokládalo, že tyto skvrny slouží k zastrašení predátora, případně k tomu, aby byl jeho útok sveden na jinou část těla, než kam obvykle směřuje, tedy na hlavu. Pokud tak predátor zaútočí jen na konec křídla, není toto poškození letální a kořist má šanci uniknout (Stevens, 2005). Ale výsledky některých experimentů pravdivost této hypotézy příliš nenasvědčovaly (Lyytinen et al, 2003). Velmi přesvědčivé řešení tohoto problému nabízí ve své práci Olofsson et al. (2010). Za modelový druh si autoři zvolili okáče jílkového (*Lopinga achine*). Zjistili, že určitá část „očí“ na jeho křídlech reflektuje v ultrafialovém světle, což na blízkou vzdálenost může upozorovat i predátor. V rámci pokusu zjišťovali atraktivitu těchto struktur pro ptačího predátora během měnící se intenzity osvětlení. Výsledkem bylo, že za plného světla či při absenci ultrafialových vlnových délek v použitém světle pták téměř neomylně útočí na hlavu, a okamžitě tak kořist usmrcuje. Ovšem za snížené intenzity osvětlení, ale při přítomnosti i ultrafialové části spektra pták téměř vždy útočil na oční skvrny s UV-reflektantním vzorem. Výsledek experimentu tedy odpovídá tomu, že ptáci častěji loví motýly za rozbřesku či za soumraku, kdy je intenzita světla opravdu nižší. „Falešné oko“ s UV-reflektantní kresbou tak opravdu může plnit svou funkci.

1.2.2. Další případy UV-reflektance u bezobratlých

Mimo motýlů byla UV-reflektance studována také u dalších bezobratlých. Jedněmi z těch nejvýznamnějších jsou bezesporu brouci (Coleoptera). Jedna z prvních a dosud nejobsáhlejších prací na téma UV-reflektance u brouků vznikla v druhé polovině sedmdesátých let (Pope et Hinton, 1977). Autoři se daným fenoménem zabývají komplexně napříč celým řádem Coleoptera a ověřují přítomnost ultrafialových vzorů u více než sta druhů z devíti čeledí. Přítomnost UV-reflektance zjistili u přibližně sedmdesáti z nich. Výsledky ukázaly, že UV-reflektance je běžnější u fytofágních druhů. Navíc je častější u čeledí s mnoha nočními zástupci, což odpovídá podobnému zjištění u motýlů

(viz výše). Autoři ale nezůstali pouze u výčtu druhů s UV-reflektantními vzory. Pozornost věnují také třem základním typům struktur, které mohou UV-reflektanci vytvářet. Prvním typ je spojován s tělními externalitami, jako jsou mikrotrichie či sěty. Druhý způsob je už poněkud složitější a najdeme jej pouze u brouků z čeledi potemníkovitých (Tenebrionidae) a krascovitých (Buprestidae). Ti vylučují průhledný bělavý výměšek, který prosvítá skrz póry hrudního článku a krovek a způsobuje UV-reflektanci. Posledním typem je bílá či světle nažloutlá UV-reflektivní vrstva na povrchu krovek několika pouštních zástupců čeledi potemníkovitých (Tenebrionidae). V tomto ohledu je nutné zmínit, že písek je silně UV-reflektivní materiál a UV-reflektance na pouštních druzích může fungovat jako kryptický znak. Případně ostře kontrastní bílo-černé plochy by mohly zastávat aposematickou funkci (Pope et Hinton, 1977).

V posledních deseti letech se UV-reflektance a její význam intenzivně zkoumá i u pavouků. Jako první byli podrobeni výzkumu zástupci čeledi běžníkovitých (Thomisidae), kteří UV-reflektantní vzory využívají jako kryptického znaku. Je známo, že běžníci číhají na svou kořist na květech rostlin a obvykle upřednostňují takovou barvu květu, která nejvíce odpovídá zbarvení jejich těla. Tím dosahují co možná nejlepšího krytí, a snižují tak možnost odhalení potenciální kořisti. Heilig et al. (2003) na příkladu australského běžníka *Thomisus spectabilis* ukázal, že minimálně tento druh vykazuje výraznou reflektanci v ultrafialovém spektru. Jednou z běžných kořistí tohoto běžníka je včela medonosná (*Apis mellifera*), která byla do Austrálie introdukována před více než dvěma sty lety. Jak bylo uvedeno v předchozím textu, mnozí blanokřídlí včetně včel jsou citliví i k ultrafialovému světlu. To znamená, že z pohledu včely se tento běžník zřejmě krypticky nejeví. Pokusy, během nichž tento běžník číhal na rostlině známé jako kopretinovec dřevnatý (*Chrysanthemum frutescens*), ukázaly, že jedinec na květu vytváří výrazně kontrastní vzor, který včelu naopak přitahuje. Autoři poukazují na fakt, že včela mnohem dříve zaregistruje rostlinu s běžníkem než tu, na které není. Významnou roli hraje především zbarvení běžníka a barva květu, na které se nachází (Heiling et al., 2005). Barvu květu si běžníci aktivně vybírají, respektive žlutí pavouci dávají přednost žlutému květu. Výběr u bílých signifikantní nebyl. Autoři dokládají, že běžníci bílé barvy vykazují intenzivnější reflektanci v ultrafialovém světle než jedinci žlutí, a největší kontrast tak vzniká v případě, že bíle zbarvený běžník čeká na žlutě zbarveném květu. Tato kombinace

byla také v případě lákání včely medonosné neúspěšnější. Při srovnání s přirozenou kořistí, původní australskou včelou *Austroplebia australis*, je patrný v atraktivitě bílých pavouků výrazný rozdíl. Pravděpodobně dlouhodobá koevoluce mezi původní včelou a běžníkem *T. spectabilis* vedla k tomu, že australské včely už jsou schopné predátora ve velmi kontrastních vzorech květu odhalit, proto zmíněná taktika platí zejména na naivní včely evropské (Heiling et Harberstein, 2004). Původní včely podléhají častěji predaci, pokud se pavouk v kombinaci s barvou květu stále jeví krypticky, tedy zvláště v případě žlutě zbarveného běžníka na žlutém květu. Zdá se tedy, že na zbarvení pavouků působí dva rozdílné selekční tlaky. V případě žlutě zbarvených jedinců je to úspěšnost při lovu původní kořisti díky kryptickému zbarvení, v případě barvy bílé je to vyšší úspěšnost přilákat naivní včelu medonosnou, jejíž četnost se v Austrálii zvyšuje. V souvislosti s tímto fenoménem opět vyvstává otázka nápadnosti takto zbarvených pavouků pro predátory (Tso et al, 2004). Jak jsem uvedl výše, bílé zbarvení jedinci reflektují silněji než jedinci žlutí, což by ústilo ve vyšší riziko predace bílých jedinců. Toto riziko je možná daní za vyšší úspěšnost v lovu, a žlutá barva tak nemusí mít primárně roli kryptickou před kořistí, ale před predátorem. Ovšem v tomto případě se jedná pouze o možnou hypotézu, která na své ověření ještě čeká.

Podobně jako u výše popsaných případů může být UV-reflektance také u pavouků důležitým signálem při rozpoznávání sexuálního partnera. Několik nedávných studií se věnovalo významu těchto vzorů na příkladu skákavky *Cosmophasis umbratica*. Mezi samci a samicemi tohoto druhu existuje velmi výrazný pohlavní dimorfismus právě v ultrafialovém spektru. Samci vykazují UV-reflektující vzory na všech částech těla, které jsou vystaveny zraku druhého jedince. Naopak samice a mladí jedinci UV-reflektující vrstvy zcela postrádají, reflektují pouze ve viditelné oblasti spektra, navíc slaběji než samci (Lim et Li, 2006a). Autoři na několika pokusech doložili, že UV-reflektantní vzory jsou velmi významné při vnitrodruhových interakcích, a to jak při námluvách, tak i v případě signalizace mezi samci (Lim et Li, 2006b). Lim et al. (2007) následně testoval vliv přítomnosti či nepřítomnosti ultrafialového světla v prostředí na průběh námluv. V případě odfiltrování UV naprosto ochabl zájem o samčího nápadníka. Podobně i samice, které po ozáření ultrafialovým světlem fluoreskují, byly při absenci UV nápadníky zcela ignorovány. Ve spolupráci s dalšími autory poté byly u stejného druhu podrobně popsány struktury, které UV-reflektanci způsobují (Land et al., 2007).

2. Cíle práce

Z úvodního textu je patrné, že UV-reflektance není v živočišné říši tak neobvyklým jevem, jak se ještě před několika desetiletími mohlo zdát. Od prvních prací, které přinesly zprávy o ultrafialových kresbách na křídlech motýlů, byl fenomén UV-reflektance popsán také u dalších taxonů bezobratlých. Nejintenzivněji je však tato problematika stále studována právě u motýlů. Od objevení UV kreseb na křídlech několika druhů se poměrně záhy stal předmětem studia především význam UV-reflektance jakožto sekundárního pohlavního znaku. Funkce UV-reflektance v pohlavním výběru se následně stala tradičním tématem většiny prací věnujících se studiu tohoto fenoménu. Obvykle se pak tyto studie zaměřují na přítomnost/nepřítomnost UV-reflektantní kresby, případně její intenzitu. Oproti tomu existuje jen minimum studií, které se zabývají otázkou, zda může míra intenzity této kresby souviset s různými vnějšími faktory. Otázka, zda se s různými parametry prostředí mění také tvaroprostor UV-reflektantní kresby v rámci křídelního povrchu, je opomíjena zcela. Je ovšem nutné zdůraznit, že u mnoha druhů není UV-reflektance na křídle ohraničenou strukturou, a sledování variability v intenzitě je pak jedinou možností studia. Pro cíle této práce jsem proto vybral druh *Gonepteryx rhamni* (včetně několika poddruhů), jehož samci mají na dorsální straně křídla jasně ohraničený UV-reflektantní vzor, který studium tvarové variability umožňuje.

Již při prvním pohledu na soubor fotografií učených pro tvarovou analýzu je velikost kresby ve vztahu ke křídlu i její tvar v rámci taxonu (včetně poddruhů) velmi proměnlivý. Výchozím bodem pro další výzkum UV kresby u žluťáka je otázka, zdali vůbec a případně do jaké míry se na této plasticitě tvaru kresby i křídla podílejí přirozené faktory, ať už geografické (např. zeměpisná šířka, délka či výška), tak různé podnebné vlivy, jako je průměrná roční teplota a celkový roční úhrn srážek. Ty pak mohou souviset s dalšími dvěma studovanými proměnnými, a to indexem míry zelenosti krajiny (NDVI) a produktivitou prostředí (NPP). Způsob, jakým se UV-reflektantní kresba a tvar křídla mění v rámci nasbíraného materiálu a jak je tento komplexní tvaroprostor ovlivňován uvedenými nezávislými proměnnými, se pokusím objasnit pomocí metod geometrické morfometriky (viz příslušná kapitola).

V úvodu jsem poznamenal, že UV-reflektantní kresba může často plnit funkci sekundárního pohlavního znaku. Zvláště důležitý je případ, kdy si samice vybírá samce podle intenzity jeho kresby (Kemp, 2007) - preference tohoto znaku má pravděpodobně určitou evoluční výhodu. Autoři zabývající se touto problematikou se soustředili především na variabilitu kresby v průběhu života vlivem opotřebování a dávali tento fakt do souvislosti s rozpoznáním mladšího samce, který poskytne kvalitnější ejakulát (Rutowski et Gilchrist, 1986). Otázkou ovšem zůstává, zdali za samotnou expresí UV-reflektantní kresby mohou stát také různé abiotické faktory prostředí, jako jsou teplota či množství srážek. V souvislosti s tím se pak nabízí také význam produktivity prostředí. V úvodní kapitole jsem nastínil myšlenku, že UV-kresba by mohla být sekundárním pohlavním znakem ve smyslu hypotézy dobrých genů, což by předpokládalo, že míra exprese struktur, které reflektanci způsobují, by byla nákladnější, než například tvorba běžných pigmentů. Mohla by například signalizovat úspěšnost samce při vyhledávání potravy. Předpoklad nákladnosti UV-reflektantních struktur je podpořen faktem, že na spodní straně samičího křídla je u druhu *G. rhamni* patrný tzv. Oudemansův fenomén; UV-reflektance je v tomto případě přítomna na celé ploše křídla, ale chybí přesně v místech, kde se křídla překrývají, a která tedy nejsou běžně viditelná. V této souvislosti se budu zabývat otázkou, zda se na tvaru UV-reflektantní kresby podílí produktivita prostředí. Zde se zaměřím na míru popsané variability v souvislosti s průměrnou roční teplotou, srážkami, a především parametrem produktivity prostředí (NPP). Další sledovanou nezávislou proměnnou je index míry zelenosti krajiny (NDVI), který také bývá některými autoři dáván do souvislosti s produktivitou prostředí (Boelman et al, 2003, Gillespie et al., 2008).

Uvedl jsem, že některé druhy motýlů vykazují UV-reflektanci plošně na celém křídle, bez ohraničeného vzoru, a nabízí se tak pouze studium její intenzity. Tento typ reflektance nacházíme například u běláška řepkového (*Pieris napi*). Studii zaměřenou na sledování variability intenzity UV-reflektance v závislosti na geografických faktorech publikoval Obara et al (2008). V této práci se snaží odhalit gradient intenzity UV-reflektance u samic poddruhů běláška řepkového v rámci celé Eurasie, od Britských ostrovů po Japonsko. Výsledky napovídají, že intenzita reflektance roste v longitudinálním směru, od západu na východ, s absencí UV-reflektantního vzoru u britského poddruhu a

s maximální intenzitou reflektance v Japonsku. Růst intenzity však nebyl zcela plynulý a v souboru studovaných populací se vyskytuje několik výjimek. Modelový druh této práce, žluťásek řešetlákový (*Gonepteryx rhamni*), který se společně s běláskem řadí do čeledi běláskovitých (Pieridae), nabízí díky své ohraničené UV-kresbě možnost mimo intenzitu studovat také tvar UV-reflektantního vzoru v rámci křídla. Na základě uvedené studie se pokusím objasnit, zdali existuje variabilita ve tvaru UV-reflektantní kresby u druhu *G. rhamni* v závislosti na longitudě. Zároveň se také pokusím osvětlit, existuje-li trend v proměnlivosti tvaru podél dalších geografických proměnných, tedy latitudy (zeměpisná šířka) a altitudy (nadmořská výška).

Další důležitou otázkou, kterou se pokusím v této práci ozřejmit, je význam UV-reflektance, coby ochrany před ultrafialovým zářením dopadajícím na zemský povrch. Tento možný význam UV-reflektance nastínili Meyer-Rochow et Järvilehto (1997). Při studiu samic druhu *P. napi* na území Finska zjistili na severu intenzivnější reflektanci než u jedinců pocházejících z jihu. Autoři navrhli dvě možná vysvětlení pozorovaného efektu. První souvisí s faktem, že ve vyšších zeměpisných šířkách přichází UV k zemi pod ostřejším úhlem, je možné dodat, že také s nižší intenzitou. Vysvětlením tak může být, že směrem k pólům jsou nutné intenzivněji reflektující struktury, aby signál UV-reflektance byl dostatečně silný pro vnitrodruhovou komunikaci. Druhé vysvětlení bere v úvahu více dopadajícího škodlivého ultrafialového záření na severu země v důsledku ozónové díry nad touto oblastí. Autoři tak předpokládají, že UV-reflektance by mohla sloužit jako ochrana před nebezpečným krátkovlnným zářením. Přesné hodnoty dopadajícího UV k jednotlivým lokalitám se mi získat nepodařilo, proto ohledně testování variability tvaru v závislosti na množství dopadajícího UV budu pracovat s předpokladem, že směrem k rovníku roste hodnota dopadajícího UV, a že do určité míry pak roste se zvyšující se nadmořskou výškou (Herman et al., 1999). Míra dopadajícího UV může být ovšem lokálně ovlivněna také množstvím ozonu či oblačností. Globálně by pak tyto hypotézy dávaly v případě latitudinálního gradientu zcela protichůdné výsledky. Hypotéza protektivní funkce UV-reflektantního vzoru tedy předpokládá, že blíže k rovníku a ve vyšší nadmořské výšce by se měla kresba v rámci povrchu křídla poměrně zvětšovat, v případě druhé hypotézy by naopak měla být kresba výraznější v severnějších lokalitách

2.1. Shrnutí a hypotézy

Cílem této práce je pomocí metod geometrické morfometriky popsat tvarovou proměnlivost UV-reflektantní kresby a křídla u druhu *Gonepteryx rhamni* a následně odhalit, jak je tato variabilita ovlivněna různými geografickými a environmetálními proměnnými. Na základě výše uvedených skutečností jsem si vytyčil tři hypotézy:

- 1) Struktury způsobující UV-reflektanci jsou nákladné a míra jejich exprese je ovlivněna dostupností zdrojů, potažmo produktivitou prostředí.
- 2) Tvar UV-reflektantního vzoru a křídla se mění v longitudinálním směru.
- 3) UV-reflektantní kresba slouží jako ochrana před ultrafialovým zářením dopadajícím na zemský povrch.
- 4) Ve vyšších zeměpisných šířkách přichází k zemskému povrchu méně ultrafialového světla a pro zachování dostatečné síly komunikačního signálu UV-reflektance jsou preferovány tvarově výraznější reflektující struktury.

3. Materiál a metody

3.1. Modelový druh – *Gonepteryx rhamni* – stručná charakteristika

Modelovým druhem této práce je zástupce čeledi běláskovitých (Pieridae) *Gonepteryx rhamni* a k němu příslušející poddruhy vyskytující se v celé palearktické oblasti (*G. rhamni* po Mongolsko; fotografie jednotlivých poddruhů jsou uvedeny ve druhé části Příloh). V případě určení poddruhů se spoléhám na určení uvedené na lokalitním štítku. Základní informace o asijských poddruzích byly obtížně dohledatelné, ale vzhledem k jejich malému podílu a příslušnosti ke stejnému druhu podávám obecnou charakteristiku *G. rhamni*, který má v datovém souboru majoritní zastoupení. Charakteristika je čerpána ze stránek Mapování a ochrana motýlů ČR (www.lepidoptera.cz).

Diagonální délka předního křídla: 26-31 mm (výjimka: u poddruhu *G. r. amurensis* delší)

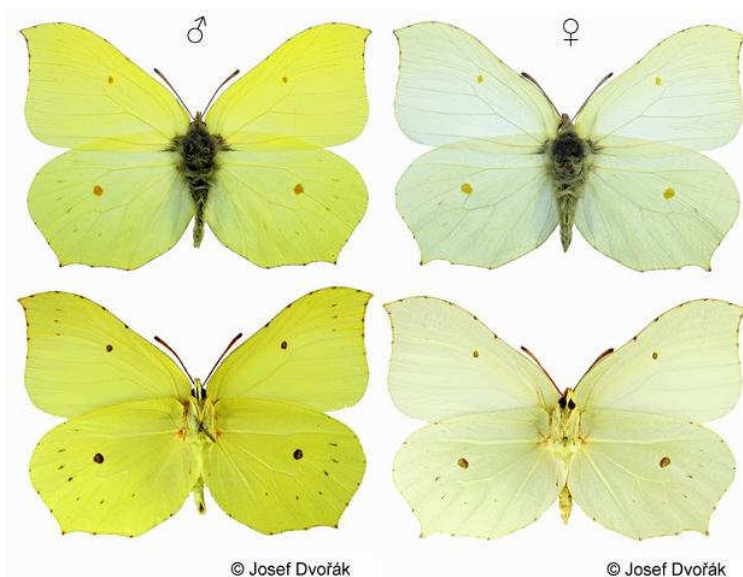
Biotop: Okraje lesů (listnaté i jehličnaté), paseky, lesní louky, potoční a říční nivy

Živná rostlina: Řešetlák počistivý (*Rhamnus cathartica*) a krušina olšová (*Frangula alnus*). V případě asijských poddruhů to pak mohou být i jiné poddruhy živných rostlin.

Vývoj: Jednogeneční (monovoltinní) druh. Rodí se v červenci, imaga přezimují, v červnu následujícího roku umírají. Páření na jaře, brzy po přezimování. Stadium housenky 30 dní (5 instarů), kukla přibližně 14 dní.

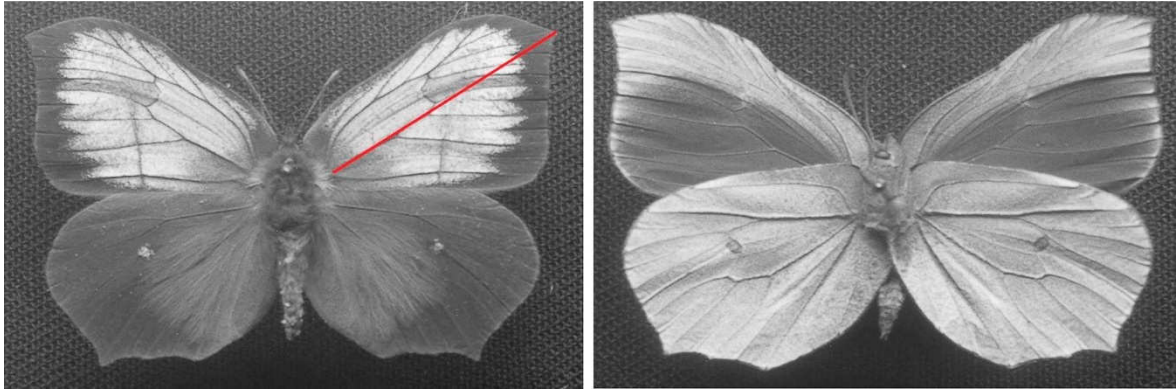
Rozmnožování: k páření dochází na zemi, předchází mu náročné zasnubní lety.

Fotografie:



Obr. 1. *Gonepteryx rhamni*. Fotografie ve viditelném světle. Horní snímky – vrchní strana křídla, dole – spodní strana křídla.

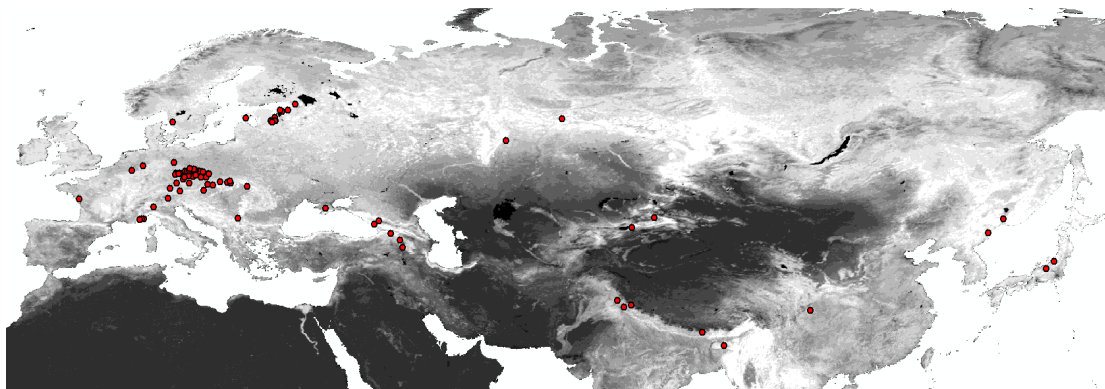
Fotografie z www.BioLib.cz.



Obr. 2. *Gonepteryx rhamni*. Fotografie v ultrafialovém světle. Na snímku vlevo je samec (vrchní strana křídla). Dobře patrná UV-reflektantní kresba. Červenou čarou označena diagonální délka křídla – rozměr od báze po apex). Spodní strana samčího křídla není UV-reflektantní. Na snímku vpravo je spodní strana samičího křídla, vrchní strana není UV-reflektantní. Dobře patrný je Oudemansův fenomén.

3.2. Popis získávání vzorků

Veškeré použité fotografie jedinců druhu *Gonepteryx rhamni* a uvedených poddruhů byly pořízeny v muzejních sbírkách. První sadu fotografií, která čítá přibližně čtyřicet jedinců, pořídil David Stella v dubnu roku 2011 v The University of Tartu Natural History Museum (Estonsko). Zbytek fotografií, přibližně sto devadesát exemplářů, jsem pořídil osobně v Entomologickém oddělení Národního muzea v Praze-Kunraticích. Z nasbíraných vzorků byly posléze vyřazeny všechny exempláře, u kterých nebylo možné dohledat lokalitu sběru. Vyřazeni byli také jedinci, kteří byli natolik poškození, že na ně nebyly metody geometrické morfometrie použitelné. Získané exempláře pocházejí z celé Palearktické oblasti s největší koncentrací jedinců ze střední Evropy (obr. 3). Samců použitých v jednotlivých analýzách bylo celkem 118, z toho polovina, tedy 59 původem z České republiky. Samic je celkem 67, z toho 46 z území České republiky. Ve většině analýz jsem se rozhodl použít kompletní soubory všech jedinců stejného pohlaví, i přes výraznou převahu exemplářů pocházejících právě z České republiky. Následně jsem provedl samostatné analýzy i na jedincích pouze z území ČR a dalších oblastí (viz kapitola Výsledky).



Obr. 3. Mapa palearktické oblasti s vyznačenými lokalitami původu studovaných motýlů (červené body). Často více motýlů z jedné lokality – pouze jedna tečka.

3.3. Environmentální proměnné

U exemplářů s dohledatelnou lokalitou sběru jsem skrze internetové stránky www.veronica.cz, využil aplikaci Google Maps pro určení geografických souřadnic jednotlivých lokalit. Globální klimatická data jsou na základě geografických souřadnic extrahována přes databázi Worldclim (www.worldclim.org), což je v současné době jedna z nejpoužívanějších globálních klimatických databází. Data v systému pochází z meteorologických stanic celého území, ty však nepokrývají celou oblast v dostačené hustotě, takže databáze je vytvořena pomocí extrapolace dat z existujících stanic. Lepší řešení se prozatím nenabízí. Model, který sloužil k vytvoření používaného datového setu, je blíže popsán v práci Hijmans et al. (2005). Jednotlivé proměnné byly extrahovány s použitím programu ArcGis 9.2. (<http://www.esri.com/>). Pomocí databáze Worldclim jsem získal údaje o průměrné roční teplotě, průměrných ročních srážkách a nadmořské výšce dané lokality. Data jsem získal ve dvou rozlišeních, a to 2,5 úhlové minuty a 10 úhlových minut. Ve všech uvedených analýzách jsem použil měřítko hrubší, které sice průměruje hodnoty pro větší oblast, ale zjemňuje případnou chybu zapříčiněnou mírně odlišnou lokalizací, která by mohla mít významný vliv například na nadmořskou výšku u exemplářů lokalizovaných poblíž horských masívů (např. exempláře z území Indie). Přesto jsem jako kontrolu provedl analýzy také s použitím jemnějšího měřítka. Výsledky byly právě krom nadmořské výšky téměř totožné.

Další použitou nezávislou proměnnou je Index míry zelenosti krajiny (NDVI – Normalized Difference Vegetation Index). Tato data byla získána skrze portál <http://daac.gsfc.nasa.gov/>. Hodnoty jsou extrahovány z kompozitních družicových fotografií zemského povrchu ve vysokém rozlišení (AVHRR), pořízených v rámci programu NOAA/NASA Pathfinder. Kompozitní fotografie jsou získány ze snímků zemského povrchu pořízených v letech 1981-2000 (s výjimkou období září-prosinec, 1994).

Poslední nezávislou proměnnou je míra produktivity prostředí (NPP – Net Primary Productivity). Model NPP je založený na kompilaci sedmnácti různých modelů, z nichž mnohé jsou primárně určeny ke zkoumání obratu uhlíku v prostředí. Jedná se především o modely klimatické a vegetační (Cramer et al., 1999). Data jsou dostupná na webové adrese Postupimského ústavu pro výzkum klimatických změn (<http://www.pik-potsdam.de>). Použité hodnoty NPP jsou průměrem hodnot nasbíraných v letech 1961 až 1990.

3.4. Metodika fotografování (a následná úprava fotografií)

Všechny fotografie byly pořízené digitálním fotoaparátem FujiFilm IS Pro. Ten je citlivý pro vlnové délky od 330 do 900 nm. K odstranění vlnových délek viditelného a infračerveného světla jsem použil filtry „B+W 403“ a „B+W BG 53“. S přihlédnutím k podmínkám, za jakých jsou fotografie pořizovány, a k faktu, že ve slunečním světle jsou pouze přibližně 4 % ultrafialového světla, bylo nutné pro fotografování využít další zdroj UV. Pro metody geometrické morfometriky je navíc důležité, aby byla kresba dobře viditelná a jasně ohraničená. Díky nasvícení ultrafialovým světlem pak vytváří silný kontrast s nereflektujícími částmi křídla. Jako zdroj UV byla při pořízení všech fotografií použita lampa UVP MRL-58 multiple-Ray-Lamp (8watt, 230V-50Hz, 0,16A) se rtuťovou zářivkou 8w F8T5 longwave 365nm. Doba expozice fotografií v UV byla 20 vteřin.

Všechny fotografie jsem následně upravil (oříznutí okrajů a převedení na černobílý formát) v základním programu pro úpravu fotografií systému Windows. Fotografie byly upraveny tak, aby nemohlo dojít ke změně tvaru, či jakémukoli myslitelnému zkreslení, které by se mohlo projevit při následné analýze.

3.5. Geometrická morfometrika

Studiu tvarové rozmanitosti živých organismů a jejich částí byla přírodovědci vždy věnována značná pozornost. Původní morfologické studie se tradičně zaměřovaly především na kvalitativní charakter popisovaných jevů. Oproti tomu práce využívající metod morfometriky kladou hlavní důraz na znaky kvantitativní a snaží se zachytit dynamiku změn tvaroprostoru (Zeldich et al., 2004). Pokusy o zachycení variability některých tvarů se datují hluboko do minulosti, avšak jako první vytvořil konkrétní koncept o proměnlivosti tvaru skotský biolog a matematik D'Arcy Thompson v knize *On Growth and Form* (O růstu a tvaru), která poprvé vyšla roku 1917 (Thompson, 1917). Od šedesátých let minulého století začali biometrici k popisu variability ve tvaru využívat mnohé multivariátní statistické metody jako například analýzu hlavních komponent (PCA) či analýzu kanonických variát (CVA). Zkoumanými proměnnými byly obvykle veličiny určující velikost, jako délka, výška či šířka (Adams et al., 2004). Z toho důvodu byly tyto metody kritizovány - je-li použita pouze vzdálenost jednotlivých bodů, může docházet k deformaci výsledného tvaru, a tedy ke ztrátě důležité informace (Zeldich et al., 2004). Toto období bývá obvykle nazýváno Tradiční morfometrií (Marcus, 1990).

Na tradiční morfometrii navazuje geometrická morfometrika (GM) (Rohlf et Marcus, 1993). Jejím zásadním přínosem je možnost studovat tvar jako celek a to nezávisle na velikosti. David Kendall a další statistici vypracovali teorii tvarové analýzy, která umožnila kombinovat multivariátní statistické metody a postupy pro přímou vizualizaci biologických forem (Adams et al., 2004). Prostor vytvořený souborem tvarových proměnných se po D. Kendallovi nazývá Kendallův tvaroprostor (*Kendall's shape space*). Jelikož se nejedná o euklidovský prostor, ale o nelineární projekci bodů na kulové ploše, je nutné si jej pro potřeby multivariátní analýzy převést do prostoru tangenciálního (*Tangent space*), který pracuje s euklidovskou geometrií a umožňuje lineární popis vzdáleností a úhlů mezi body Kendallova tvaroprostoru (Kendall, 1984; Slice, 2001). Tvar zahrnuje všechny informace v uspořádání tvarových proměnných (landmarků) krom velikosti, polohy a orientace. Ty jsou odstraněny během prokrustovské analýzy, při které jsou jednotlivé objekty převedeny do jednotné velikosti, přiloženy svými těžišti a natočeny do stejné polohy (Klingenberg, 2002). Pro upřesnění: podle definice Slice (2005) je geometrická morfometrika souborem metod získávání, zpracování a

analýzy tvarových proměnných takovým způsobem, že veškerá informace o tvaru zůstává zachována. S tím souvisí velmi důležitá vlastnost geometrické morfometrie, a to možnost zpětně rekonstruovat původní pozice landmarků v tvaroprostoru (Adams et al., 2004; Klingenberg et Monteiro, 2005).

Metody geometrické morfometrie našly v posledních dvaceti letech uplatnění v mnoha biologických oborech. Jsou využívány při studiu taxonomie, evolučních trendů, pohlavního dimorfismu, i mnoha dalších biologických odvětví. Od původních aplikací zvláště v antropologii (Rosas et Bastir, 2002), kde se v posledních letech rozvíjí i využití morfometrie v 3-D prostoru (Mantini et Ripani, 2009), se GM metody v posledních letech mocně rozšířily i do různých odvětví botaniky (Neustupa et al., 2009; Niet et al., 2010). Nesmíme zapomínat ani na využití metod GM v zoologických disciplínách, ať už se jedná o bezobratlé (Breuker et al., 2010), nebo obratlovce, u kterých se GM metody osvědčily při studiu ryb (Cavalcanti et al., 1999; Kerschbaumer et Sturmbauer, 2011), plazů (Kaliontzopoulou et al., 2007) i savců (Blagojevic et Milosevic-Zlatanovic, 2011). K progresivnímu rozvoji geometrické morfometrie přispívají i četné práce obecně souhrnné (Adams et al., 2004; Slice, 2005; Mitteroecker et Gunz, 2009) a popularizační, z nichž některé jsou dostupné i v českém jazyce (Macholán, 1999; Neustupa, 2006).

3.5.1. Tvarové proměnné – definice a použití

3.5.1.1. Landmarky

Landmarky, neboli hlavní tvarové proměnné, jsou anatomicky homologické body v rámci všech objektů datového souboru, které slouží jako nositelé informace o tvaru objektu. Obvykle se jedná o takové body, které jsou jednoznačně lokalizované na určitých výrazných strukturách, nemění své postavení vůči ostatním landmarkům na stejném objektu a jsou opětovně přesně určitelné (Zelditch et al., 2004; Slice, 2005). Podle Booksteinovy (1991) definice význačných bodů je můžeme rozdělit do tří typů podle charakteru struktur, které je vymezují. Prvním typem jsou jasně definované homologické body na rozmezí tkání nebo v místě styku různých struktur. V mé práci spadají do tohoto typu landmarky, které se nacházejí na okraji křídla v místě, kde na něm ústí křídelní žilky.

Druhým typem jsou například maxima a minima křivek, často se může jednat o začátek či konec nějaké struktury. Posledním typem jsou landmarky určené pouze relativně vůči jinému bodu, například nejvzdálenější nebo nejbližší bod nějaké křivky či struktury vůči dalšímu zvolenému bodu.

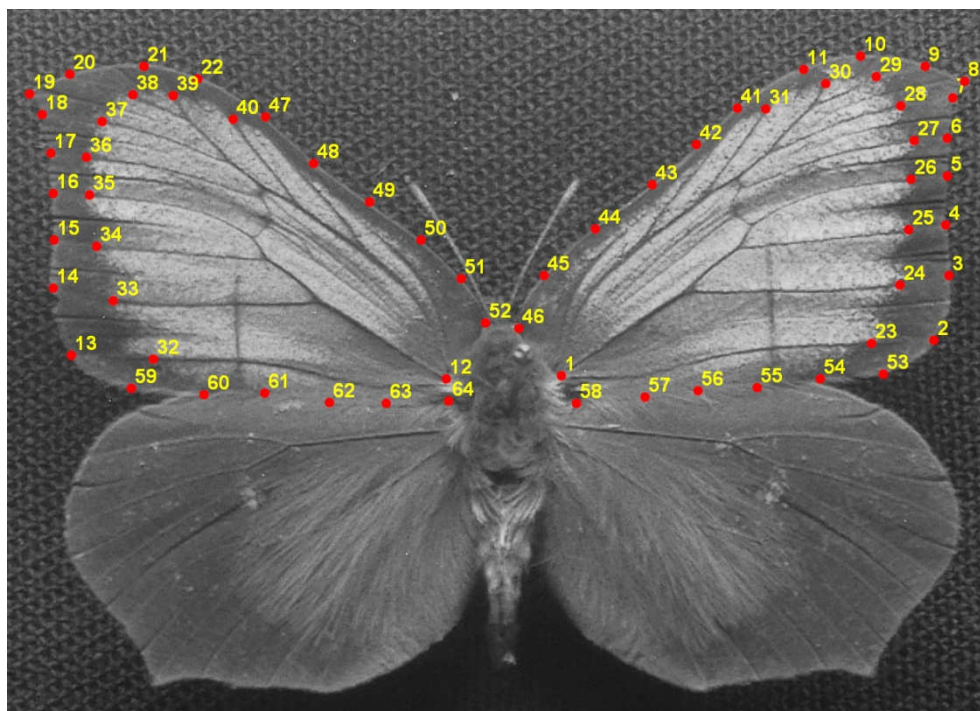
3.5.1.2. Semilandmarky

Mimo hlavní tvarové proměnné mají velký význam i tzv. semi-landmarky, neboli klouzavé tvarové proměnné. Jejich pozice není dána nějakým jasně vymezeným homologickým bodem jako u „pravých“ landmarků, ale jedná se o body na určité struktuře, definované pouze svou polohou na této struktuře. Běžně se jedná například o body na nějaké křivce, které jsou určeny svým vzájemným konstantním rozestupem. Výhodou těchto bodů je jejich schopnost kopírovat různá tvarová zakřivení, a vystihnout tak co nejlépe tvar studovaného objektu (Bookstein, 1997). V daném smyslu je užívám i v této práci. Nesmíme ale zapomínat, že semi-landmarky se nadržují žádné jasné stanovené struktury, a nemohou tak mít v analýze stejnou váhu jako landmarky. Nesou proto i menší množství informace. Z toho důvodu je někdy velmi vhodné v datovém souboru pomocí specifických metod tyto dva typy tvarových proměnných rozlišit, aby semilandmarky nevnášely do následné analýzy dodatečnou, zkreslující informaci. Ovšem to se týká především složitějších struktur s více křivkami (Zelditch et al., 2004).

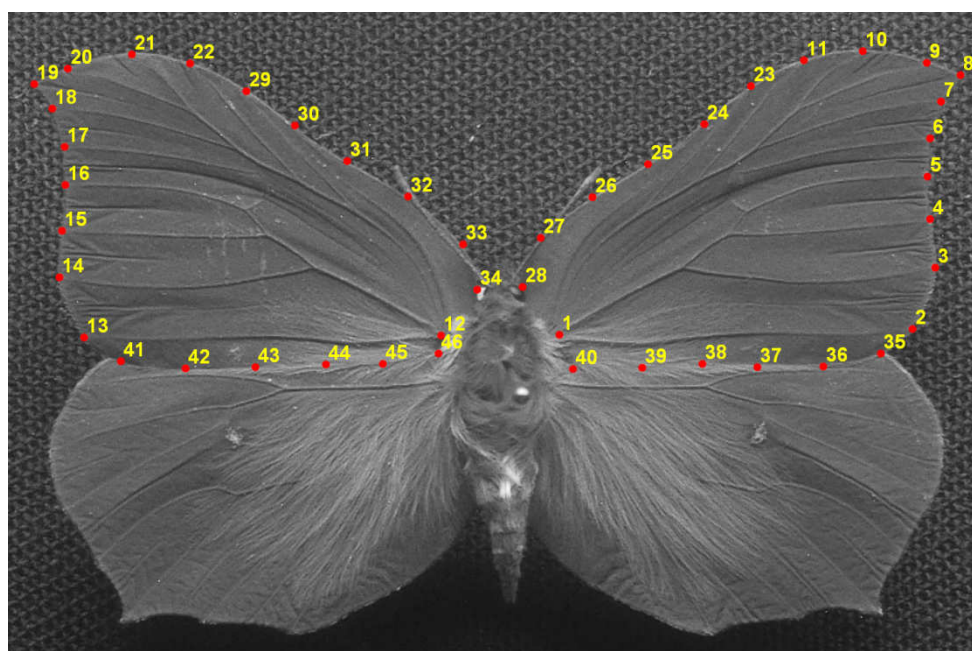
3.5.1.3. Rozložení tvarových proměnných v datovém souboru

Jak bylo popsáno v kapitole o charakteristice druhu *Gonepteryx rhamni*, v ultrafialové oblasti spektra vykazuje tento druh výrazný pohlavní dimorfismus. Na vrchní straně křídel najdeme UV-reflektantní kresbu pouze u samců, a to je také důvod, proč mají jednotlivá pohlaví v datovém souboru odlišný počet tvarových proměnných. U samic jsem celkově použil 46 tvarových proměnných, 22 landmarků a 24 semi-landmarků. U samců tvar zachycuje 64 proměnných, z toho 40 připadá na landmarky a opět 24 na semi-landmarky. Ze čtyřiceti landmarků jich stejně jako u samic 22 určuje obrys křídla, na samotnou kresbu jich tak připadá 18 (9 na každém křídle). Semi-landmarů je v případě obou pohlaví stejný počet a jsou použity ve stejné pozici. Na obou křídlech pomocí nich zachycují horní a spodní okraj křídla v místech, kde se nenachází žádné homologické body.

Klouzavé tvarové proměnné jsou zaneseny tak, aby mezi jednotlivými body byly v rámci možností stejné rozestupy (obr. 4 a 5).



Obr. 4. Konfigurace tvarových proměnných na samčích křídlech. Landmarky (1-40) a semilandmarky (41-64).



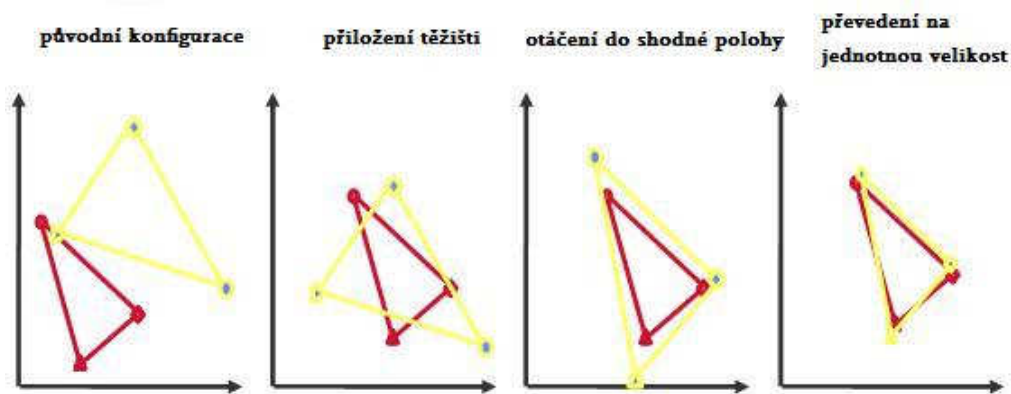
Obr. 5. Konfigurace tvarových proměnných na samičích křídlech. Landmarky (1-22) a semilandmarky (23-46).

Pro digitalizaci hlavních a klouzavých tvarových proměnných jsem použil software tpsDig, verze 2.12. (Rohlf, 2008). Úpravu datového souboru k následným analýzám jsem provedl v programu tpsUtil, verze 1.46 (Rohlf, 2010). Tato úprava spočívala v rozdělení tvarových proměnných podle křídla, na kterém se nacházejí. V dalších analýzách tak budu jako hlavní závislou proměnnou používat vždy pouze tvar jednoho z křídel, a tím bude křídlo levé. Pravé pak může sloužit pro případnou kontrolu či test asymetrie.

3.5.2. Standardizace datového souboru

3.5.2.1. Prokrustovská superimpozice

Digitalizovaná data v současné podobě obsahují informace nesouvisející s tvarem. Pro další analýzu je důležité tuto „nepotřebnou“ informaci“, která se týká například velikosti či polohy v prostoru, odstranit, aby bylo možné provést následné porovnání tvaru jednotlivých objektů. K tomu nám slouží metoda tzv. superimpozice (superpozice). Základem této metody je srovnávání polohy jednotlivých homologických landmarků, čehož je dosaženo standardizací polohy objektů, jejich orientace v prostoru a převodem všech objektů na jednotnou velikost. K vyřešení tohoto problému se nám nabízí několik alternativních superimpozičních metod (Zelditch et al., 2004). Pro tuto analýzu jsem vybral nejznámější a v pracích GM jednoznačně nejpoužívanější metodu, a tou je tzv. prokrustovná superimpozice či generalizovaná prokrustovská analýza (*Procrustes generalized least squares* (GLS)). Podobně jako ostatní superimpoziční metody i GLS odstraňuje pro tvar nevýznamnou variabilitu pomocí překládání, rotace a sjednocení rozměrů studovaných objektů. Jak už plyne z anglického názvu, prokrustovská superimpozice používá k získání informace o pozici homologických landmarků metodu nejmenších čtverců, kterou se snaží o minimalizaci prokrustovských vzdáleností mezi těmito body. Během GLS však dochází ke třem důležitým krokům (obr. 6), jak je popisuje Rohlf (1990) či detailněji Rohlf et Slice (1990).



Obr. 6. Ilustrační zobrazení průběhu prokrustovské superimpozice. Podrobný popis viz níže.

Nejprve jsou u každého objektu na základě souřadnic landmarků zjištěna jejich těžiště (*centroid*) a všechny objekty jsou následně postaveny těmito těžišti na sebe (pro představu, všemi těžišti bychom mohli proložit jednu osu). Ve druhém kroku dochází ke srovnání souboru tvarových proměnných na jednotnou velikost, neboli „centroid size“. Centroid size konfigurace landmarků se počítá jako druhá mocnina sumy čtverců (mocnin) jednotlivých vzdáleností landmarků od centroidu. Ve třetí a posledním kroku je jeden z objektů zvolen jako předloha a všechny ostatní jsou otáčeny tak, aby jejich tvar co nejvíce souhlasil, a došlo tím k minimalizaci prokrustovských vzdáleností mezi homologickými landmarky. Následně je vypočítán průměrný tvar a ostatní objekty jsou opět srovnány podle něj, a tak se to může opakovat ještě několikrát. Jedná se tedy o iterativní (opakovaný) proces. Připomínám, že prokrustovská analýza nemá žádný vliv na informaci o tvaru, ten zůstává u všech objektů zachován.

Výsledné konfigurace tvarových proměnných zpracovaných pomocí prokrustovské superimpozice se nazývají prokrustovské souřadnice (*Procrustes shape coordinates*), z kterých je vypočítán průměrný tvar, tzv. konsenzus. Jednotlivé rozdíly od průměrného tvaru nazýváme prokrustovské reziduály či rezidua. Vzdálenost mezi dvěma homologickými landmarky se nazývá prokrustovská vzdálenost (*Procrustes distance*) (Mitteroecker et Gunz, 2009).

3.5.3. Metody statistického zpracování dat

Po standardizaci datového souboru pomocí Generalizované prokrustovské analýzy mohou přistoupit ke statistickému zpracování dat pomocí geometricko-morfometrických metod, které popíši v následujících odstavcích.

3.5.3.1. Analýza relativních warpů (RWA)

Výpočet relativních warpů vychází z metody tenkých ohebných plátů (*thin-plate spline* – TPS). To je deformační metoda, která pracuje na principu deformační mřížky (v původní představě se jedná o tenký kovový plátek), v níž jsou zaneseny tvarové proměnné. Na mřížce můžeme porovnávat konfigurace landmarků jednotlivých objektů a sledovat deformaci mřížky v závislosti na tom, jak se tvarové proměnné objektu liší od jejich homologických protějšků výchozí průměrné konfigurace (předlohy). Na prohnutí mřížky má vliv poloha každého bodu a posun v souřadnicové ose (xy) ovlivňuje souřadnice všech okolních bodů, tj. nejen landmarků, ale i jejich pomyslných spojnic. Míru deformace mřížky, potažmo prohnutí jednotlivých bodů, určuje tzv. deformační energie (*bending energy*). Z jejich hodnot je pak možné vypočítat principiální warpy (*principal warps*) a následně parciální warpy (*partial warps*). Matice jejich hodnot poté mohou být využity při různých multivariátních analýzách. Nakonec jsou spočítány warpy relativní (*relative warps*) (Bookstein, 1991; Rohlf, 1993).

Analýza relativních warpů (*Relative warps analysis* - RWA) je v zásadě pouze modifikovanou analýzou hlavních komponent (*Principal Components Analysis* – PCA), v případě nastavení parametru $\alpha = 0$ jsou jejich výstupy zcela rovnocenné (parametr α násobí parciální warpy před výpočtem hlavních komponent, pokud se nerovná nule, je některým warpů, přiřkládána odlišná váha). RWA je v geometricko-morfometrických studiích běžně používanou metodou (Stone, 1998; Neustupa, 2005). Relativní warpy umožňují vizualizaci tvarových změn a ukazují hlavní směr, kterým se tyto změny ubírají vůči průměrnému tvaru. Pomocí RWA se snažíme v multivariátním datovém souboru snížit počet původních proměnných tak, že hledáme nové proměnné, které vysvětlují největší množství variability. Výsledné proměnné nazýváme hlavními komponenty (*principal components*). Hledání jednotlivých komponent probíhá pomocí rotace pravoúhlé soustavy souřadnic. Hodnotu variance každé takové komponenty udávají tzv.

eigenvalues. Komponenty jsou seřazeny sestupně podle procentuální míry variability, kterou zachycují (první komponenta = nejvíce procent vysvětlené variability) (Zelditch et al., 2004).

Analýzu relativních warpů jsem provedl pomocí programu tpsRelw verze 1.49 (Rohlf, 2010).

3.5.3.2. Analýza kanonických variát (CVA)

Analýza kanonických variát (*Canonical variates analysis* – CVA) je podobně jako analýza hlavních komponent (PCA), potažmo analýza relativních warpů (RWA), další velmi důležitou statistickou metodou k popisu tvarové proměnlivosti (Darlington et al., 1973; Campbell et Atchley, 1981; Mitteroecker et Bookstein, 2011). Na rozdíl od PCA či RWA, které nám pomáhají zjednodušit popis variace mezi jedinci, se CVA používá k zjednodušení popisu rozdílů mezi skupinami, respektive k jejich diskriminaci na základě variability. PCA i CVA jsou si jinak velmi podobné, což platí i o matematických operacích, které během obou analýz probíhají. Avšak každá metoda tvoří zvláštní souřadnicový systém k získání nových proměnných (v případě CVA jsou to kanonické variáty – *canonical variates*) (Zelditch et al., 2004).

V této studii jsem se pomocí CVA pokusil zjistit, zdali rozdíly ve tvaru křídel a ultrafialové kresby diskriminují zkoumané objekty do poddruhů, do kterých jsou a priori určeny. Tuto analýzu jsem provedl pouze v případě samců, jelikož v souboru samic jedinci do různých poddruhů určení nejsou. Pomocí CVA jsem se pokusil také odhalit tvarovou odlišnost samčího a samičího křídla. Analýzu kanonických variát je také možné použít k tvarové diskriminaci jedinců z různých oblastí či populací. Vzhledem k rozložení datového souboru jsem provedl srovnání jedinců ze tří oddělených územních celků. První a největší skupinou jsou jedinci z území České republiky (59), druhá skupina zahrnuje samce pocházející z Pobaltí (13), obzvláště z Estonska a Lotyšska. Třetí a nejmenší skupinou jsou jedinci z oblasti Kavkazu (5). Dále by bylo možné testovat populace z Indie, Číny či Japonka. Tyto lokality však obsahují malé množství jedinců, a často také více poddruhů, případně poddruh jediný, což se kryje s CVA použitou při sledování rozdílnosti poddruhů. Pro celkovou představu v Příloze uvádím analýzu provedenou na třinácti různých

skupinách určených dle lokality původu. Analýzu kanonických variát jsem provedl v programu MorphoJ, verze 1.04a (Klingenberg, 2011).

3.5.3.3. Mnohorozměrná regrese tvaru (*shape regression*)

Mnohorozměrné regresní modely jsou další významnou součástí geometricko-morfometrických studií (Monteiro, 1999; Palmer et al., 2004). Pomocí této metody je možné testovat, jak soubor určitých proměnných ovlivňuje proměnná jiná. Proměnná, kterou se snažíme objasnit, se obvykle nazývá vysvětlovaná či závislá proměnná. Její chování objasňujeme pomocí proměnných nezávislých (vysvětlujících). Regresní metodu je možné využít i při zjišťování alometrie (Mitteroecker et al., 2004).

V této práci jsem testoval vliv několika proměnných na změny tvaru křídla a UV-reflektantní kresby. Za nezávislé proměnné jsem si zvolil jak parametry geografické (longituda – zeměpisná délka, latituda – zeměpisná šířka, altituda – nadmořská výška), tak různé ekologické faktory (průměrná roční teplota, průměrné roční srážky, Index míry zelenosti krajiny – NDVI, míru produktivity prostředí - NPP). Pro použití mnohorozměrné regrese v analýze tvarové variability bylo nutné převést data do vhodného formátu. Ideální je použití souboru hodnot parciálních warpů (*partial warp scores*), získaných při generalizované prokrustovské analýze. Tyto hodnoty již obsahují odpovídající počet stupňů volnosti (*degrees of freedom*) (Zelditch et al., 2004).

Matice souřadnic popisující tvar, které jsem využíval jako výchozí pro tvarové regrese, byly získány v průběhu analýzy relativních warpů v programem tpsRelw (Rohlf, 2010). Vliv jednotlivých nezávislých proměnných na vysvětlení tvaru (závislé proměnné) jsem provedl pomocí softwaru tpsRegr verze 1.38 (Rohlf, 2011). Signifikance regrese byla testována permutačním testem pomocí Godalova F (1000 permutací). V několika případech jsem provedl analýzu pomocí programu MorphoJ (Klingenberg, 2011), to je vždy uvedeno u konkrétní analýzy

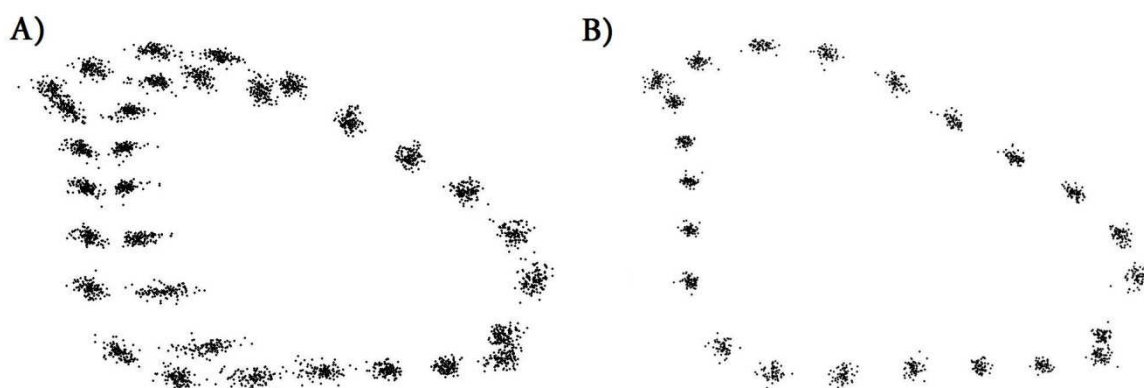
Pro doplnění mnohorozměrných regresí tvaru jsem na závěr příslušné kapitoly spočítal také korelace mezi jednotlivými nezávislými proměnnými. Tyto korelace uvádím pouze pro samce. Korelační hodnoty jsem spočítal pomocí programu PASW Statistics 18, verze 18.0.0 (SPSS, 2009).

4. Výsledky morfometrických analýz

V této kapitole uvedu výsledky všech provedených morfometrických analýz. Začnu generalizovanou prokrustovskou analýzou, která sloužila ke standardizaci datového souboru. Následně přejdu výsledkům tří základních statistických analýz, kterými jsou analýza relativních warpů, dále analýza kanonických variát, a nakonec mnorozměrné regrese tvaru, které jsou centrem této práce.

4.1. Prokrustovská superimpozice

Prvním krokem před analýzou datového souboru je prokrustovská superimpozice, která srovná tvarové konfigurace do stejné polohy a naškáluje na stejnou velikost. Průběh této metody jsem popsal v kapitole „Materiál a metody“.



Obr. 7. Vizualizace prokrustovské superimpozice. A) samčí křídlo, B) samičí křídlo.

Na obrázku 7 je vidět vizualizovaný výstup prokrustovské superimpozice. Kolem každé tvarové proměnné je patrný rozptyl homologických landmarků a klouzavých semilandmarků. Díky tomu je možné určit tvarové proměnné, jejichž poloha je ve výsledném obrazu nejproměnlivější. V tomto případě je na první pohled výrazná variabilita ve spodní části UV-reflektantní kresby a tvaru křídla nad apexem. V případě samic je rozptyl jednotlivých bodů kolem každé tvarové proměnné velmi podobný.

4.2. Analýza relativních warpů

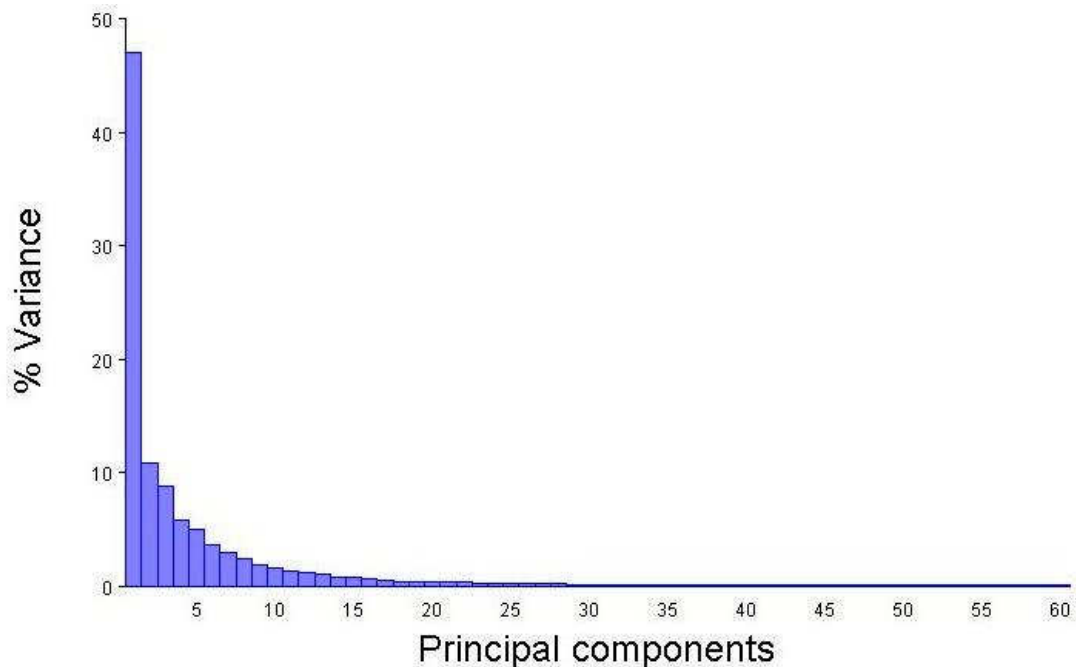
Jak bylo popsáno v kapitole o metodách geometrické morfometrie, analýza relativních warpů (RWA) je pouze modifikovanou analýzou hlavních komponent (PCA) a ve smyslu, v jakém jsem ji použil v této práci, jsou jejich výsledky zástupné. RWA slouží především k popisu tvarové proměnlivosti v rámci datového souboru. Datový soubor jsem rozdělil podle pohlaví na samce a samice, a následně podrobil analýze. V případě samců jsem provedl analýzu celkové změny tvaroprostoru, tedy konfigurace všech dvaatřiceti tvarových proměnných na jednom křídle. Poté jsem analyzoval také tvarovou variabilitu samotné UV-reflektantní kresby, obdobně pak proměnlivost tvaru křídla bez UV-kresby. Celou analýzu jsem pro kontrolu provedl i v programu MorphoJ (Klingenberg, 2011), který ji provádí přímo jako PCA. Výsledky obou analýz byly totožné.

4.2.1 RWA - samci

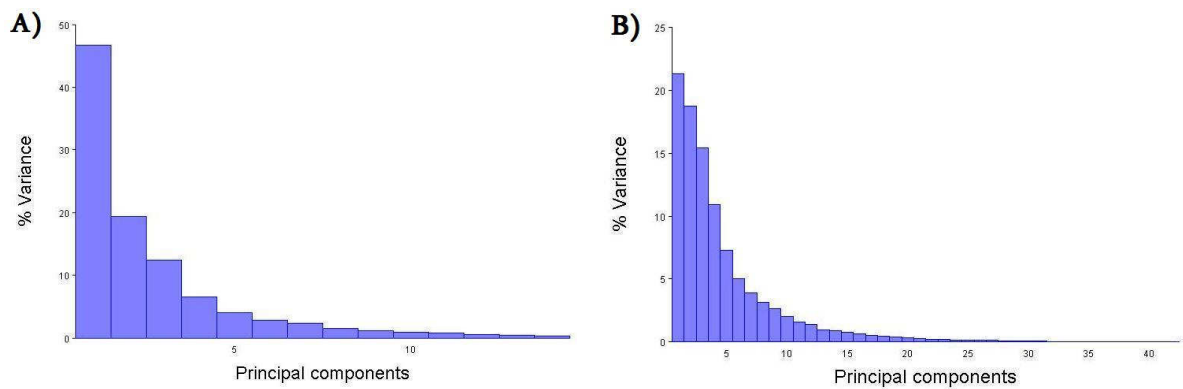
V následující tabulce jsou uvedeny hodnoty vysvětlené variability jednotlivými osami. Tabulky obsahují výsledky všech tří analýz relativních warpů, provedených na souboru všech samců (118 jedinců). Všechny analýzy byly provedeny na levém křídle. V tabulce je zahrnuto prvních deset os, které ve výsledné kumulaci ve všech případech vysvětlily přibližně 90%, v případě UV-reflektantní kresby bezmála 98% celkové variability v datovém souboru. V případě tvaroprostoru celého komplexu křídla i UV-reflektantní kresby vysvětlila první osa téměř polovinu celkové variability, druhá osa dalších téměř 11%. V případě samotné UV-kresby je hodnota připadající na první osu velmi podobná jako v předchozím případě, druhá osa pak vysvětluje dalších téměř 20% celkové proměnlivosti. Vysoké hodnoty prvních tří os mohou být dány tím, že při analýze UV-kresby je využito pouze 9 landmarků, která nezachycují tak komplexní tvar, ale jen křivku. Nakonec jsem provedl i analýzu tvarové proměnlivosti obrysu křídla. V tomto případě byly hodnoty poněkud odlišné - na vysvětlení alespoň poloviny výsledné variability jsou nutné první tři osy. První dvě osy vysvětlily kolem dvaceti procent variability, třetí přibližně 15%. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce (tab. 1) a na následujících grafech.

Samci - kompletní datový soubor (118 jedinců) - levé křídlo			
pořadí hlavní komponenty	UV-kresba + obrys křídla (% vysvětlené variability)	pouze UV-kresba (% vysvětlené variability)	pouze obrys křídla (% vysvětlené variability)
1.	47.17%	46.90%	21.35%
2.	10.80%	19.36%	18.73%
3.	8.83%	12.35%	15.47%
4.	5.81%	6.53%	10.91%
5.	4.90%	4.06%	7.30%
6.	3.57%	2.86%	5.04%
7.	2.98%	2.34%	3.90%
8.	2.43%	1.53%	3.15%
9.	1.87%	1.16%	2.65%
10.	1.51%	0.90%	2.02%
celková vysvětlená variabilita	89.87%	97.99%	90.50%

Tab. 1. Hodnoty celkové vysvětlené variability souboru 118 samců, popsané prvními deseti osami. Poslední hodnota udává míru vysvětlené variability kumulací všech deseti os.

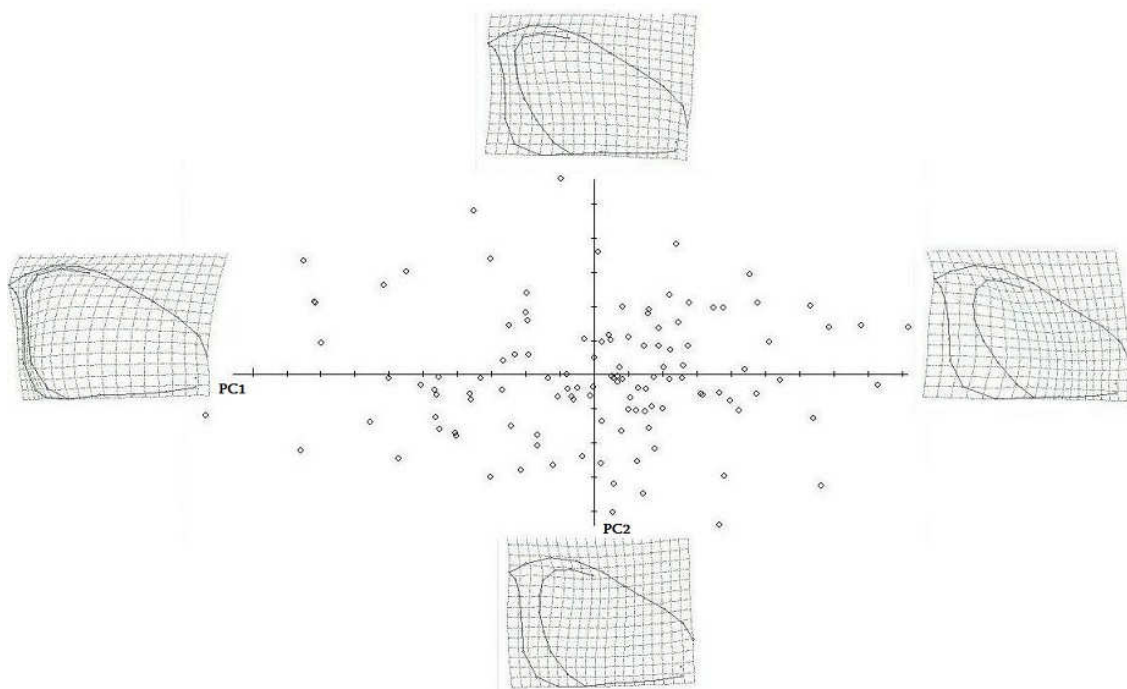


Obr. 8. Grafické znázornění výsledků analýzy relativních warpů, respektive PCA tvaroprostorové variability samců, zahrnující jak obrys křídla tak UV-reflektantní kresbu. (Graf vytvořen programem MorphoJ)



Obr. 9. Analýza relativních warpů. Grafické zobrazení celkové tvarové proměnlivosti UV-reflektantní kresby (A) a obrysu křídla (B).

Další obrázek (obr. 10) představuje vizualizovaný výstup analýzy relativních warpů. Zobrazuje tvarovou variabilitu křídla včetně UV-kresby v prostoru prvních dvou ordinačních os. Na základě těchto dvou os je možné vysledovat hlavní trendy, kterými se změna tvaru v rámci datového souboru ubírá.



Obr. 10. Analýza relativních warpů: rozmístění jednotlivých objektů v prostoru první a druhé ordinační osy. Na konci každé osy jsou pomocí deformační mřížky znázorněny příslušné tvarové deformace (ilustrace tvarových deformací jsou znázorněny v pozorovaném rozsahu hodnot proměnných)

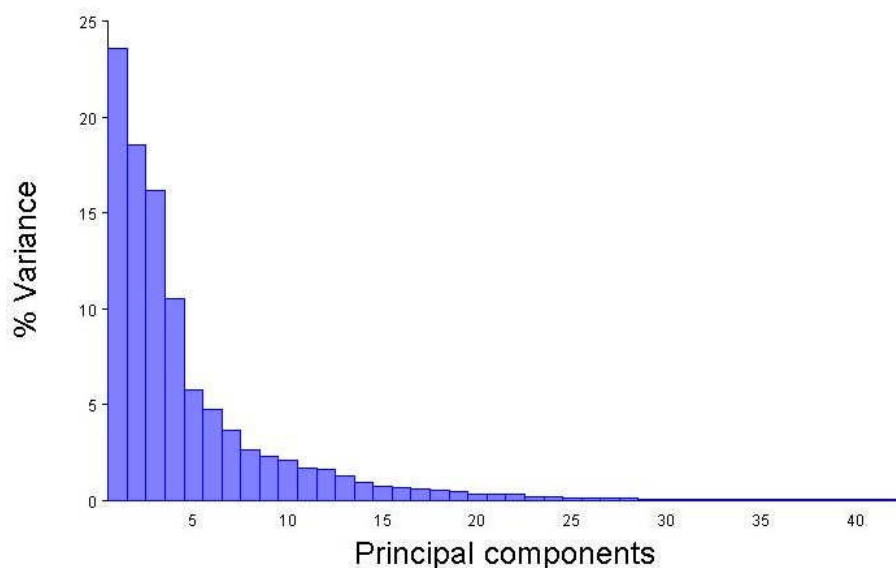
K obr. 10: Na první ose (PC1), která popisuje necelých 50% variability, je patrný výrazný trend ve změně UV-reflektantní kresby vzhledem k okraji křídla. Na levém konci osy dosahuje UV-reflektantní kresba téměř k okraji křídla. Směrem k druhému konci osy se kresba vůči obrysu křídla výrazně zmenšuje a zároveň dochází k protahování, respektive zeštíhlování celého křídla v horizontálním směru. Na druhé ose (PC2) již změna není na první pohled tak zřejmá, ale opět je patrné postupné natahování UV-reflektantní kresby k okraji křídla, a to zvláště v její horní polovině. Mění také tvar okraje křídla, které se prohýbá směrem dovnitř a přibližuje se k linii UV-reflektantní kresby. Podobná vzájemná srovnání je možné učinit i pro další osy, ale ty již nejsou vzhledem ke snižujícím se hodnotám vysvětlené variability natolik podstatné.

4.2.2. RWA – samice

Analýzu relativních warpů jsem provedl také na datovém souboru samic (67 jedinců). Stejně jako v případě RWA u samců pocházejí uvedené výsledky z analýzy levého křídla. Výsledné hodnoty jsou podobné jako v případě analýzy samotného obrysu křídla samic. První ordinační osa vysvětluje 24% celkové tvarové variability, druhá necelých 19%, třetí jen o několik procent méně. Nad hranici deseti procent se dokonce pohybuje ještě čtvrtá osa. Prvních deset ordinačních os vysvětluje podobně jako v předchozích případech přibližně 90% celkové variability. Všechny hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce, doplněné o grafické zobrazení.

Samice - kompletní datový soubor (67 jedinců) - levé křídlo			
pořadí hlavní komponenty	obrys křídla (% vysvětlené variability)	pořadí hlavní komponenty	obrys křídla (% vysvětlené variability)
1.	23.57%	7.	3.62%
2.	18.56%	8.	2.64%
3.	16.18%	9.	2.28%
4.	10.51%	10.	2.06%
5.	5.73%	celková vysvětlená variabilita	89.89%
6.	4.73%		

Tab. 2. Hodnoty celkové variability, vysvětlené prvními deseti ordinačními osami v souboru 67 samic. Poslední (zvýrazněná) hodnota udává kumulaci popsané variability prvními deseti osami.



Obr. 11. Analýza hlavních komponent. Graf - podíl jednotlivých komponent na popisu celkové tvarové variability samčího křídla.

4.3. Analýza kanonických variát

4.3.1. Rozlišení a priori určených poddruhů samců podle tvaru křídla

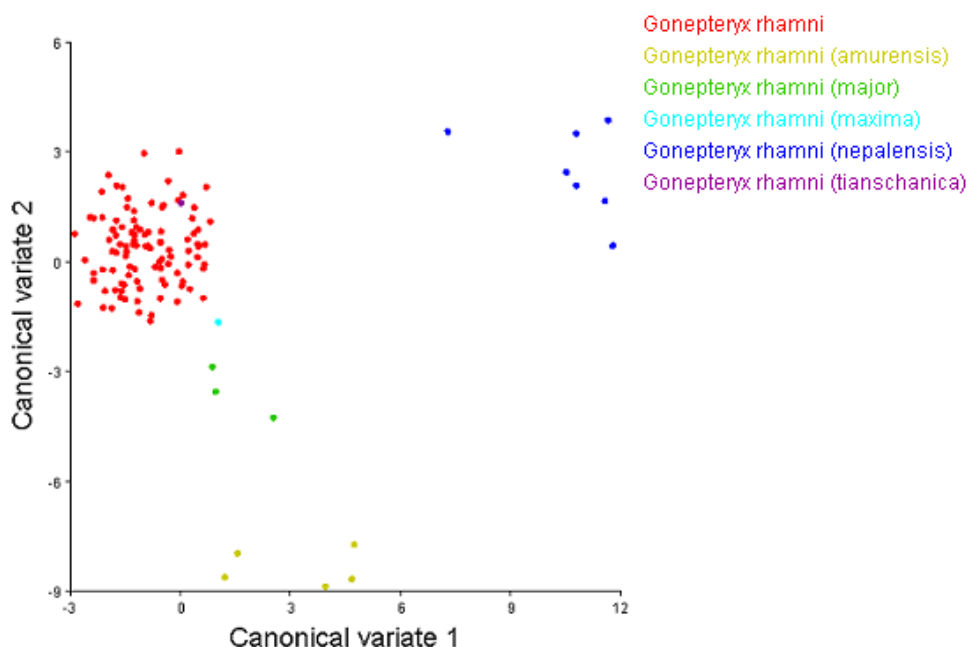
Pomocí analýzy kanonických variát (CVA) jsem se nejprve pokusil odhalit, zdali je možné na základě tvaroprostoru křídla včetně UV-kresby rozdělit jednotlivé samce do předem určených poddruhů. Je nutné zdůraznit, že v počtech jedinců náležejících k jednotlivým poddruhům panuje v souboru značná nerovnováha, navíc v určení příslušných poddruhů se spoléhám na informace uvedené na lokální štítku. Výsledný soubor tak obsahuje naprostou převahu jedinců určených jako *Gonepteryx rhamni* (101), v omezených počtech se zde nachází poddruhy *G. rhamni amurensis* (5), *G. rhamni nepalensis* (7), *G. rhamni major* (3), *G. rhamni maxima* (1), *G. rhamni tianschanica* (1). Pomocí programu MorphoJ (Klingenberg, 2011) jsem zjistil prokrustovské vzdálenosti mezi jednotlivými skupinami (poddruhy), uvedené v tabulce níže. Výsledky analýzy byly ověřeny permutačním testem (10 000 permutací), jehož výsledné *p*-hodnoty jsou uvedeny v další tabulce. Z výsledků je patrné, že existuje signifikantní rozdíl v tvaroprostoru mezi druhy *G. rhamni* a *G. rhamni amurensis*. Jako tvarově nejvzdálenější od ostatních poddruhů se podle výsledných hodnot je *G. rhamni nepalensis*, který se signifikantně odlišuje od *G. rhamni*, *G. rhamni amurensis* i *G. rhamni major*. Na následujícím obrázku je

graf, zobrazující rozložení skupin poddruhů v prostoru prvních dvou kanonických os, které zachycují téměř 80% variability (CV1: 54%; CV2: 25,84%).

CVA: prokrustovské vzdálenosti mezi poddruhy					
	1.	2.	3.	4.	5.
1. <i>Gonepteryx rhamni</i>					
2. <i>Gonepteryx rhamni (amurensis)</i>	0,0643				
3. <i>Gonepteryx rhamni (major)</i>	0,0197	0,0673			
4. <i>Gonepteryx rhamni (maxima)</i>	0,0387	0,0802	0,0453		
5. <i>Gonepteryx rhamni (nepalensis)</i>	0,0761	0,0671	0,0778	0,0796	
6. <i>Gonepteryx rhamni (tianschanica)</i>	0,0425	0,0904	0,0408	0,055	0,088

CVA: p-hodnoty prokrustovských vzdáleností (permutační test - 10 000 permutací)					
	1.	2.	3.	4.	5.
1. <i>Gonepteryx rhamni</i>					
2. <i>Gonepteryx rhamni (amurensis)</i>	0,0004				
3. <i>Gonepteryx rhamni (major)</i>	0,8856	0,2508			
4. <i>Gonepteryx rhamni (maxima)</i>	0,6465	0,4882	1		
5. <i>Gonepteryx rhamni (nepalensis)</i>	<.0001	0,0047	0,0266	0,1077	
6. <i>Gonepteryx rhamni (tianschanica)</i>	0,5624	0,3933	0,9182	1	0,1152

Tab. 3 a 4. Analýza kanonických variát: prokrustovské vzdálenosti mezi poddruhy a výsledné hodnoty permutačního testu pro tyto hodnoty. Signifikantní rozdíly ověřené permutačním testem jsou označeny zelenou barvou.



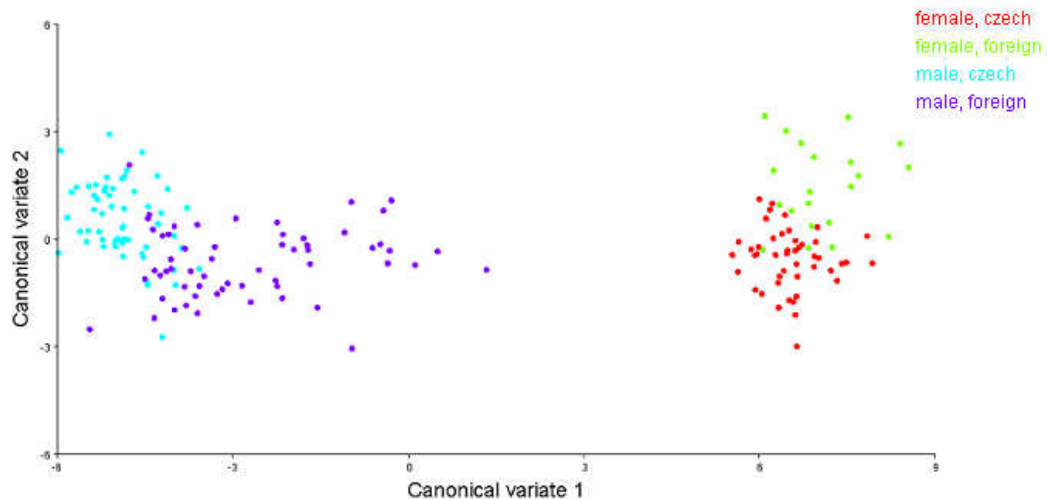
Obr. 12. Analýza kanonických variát. Rozložení pozorovaných skupin poddruhů v prostoru prvních dvou kanonických os.

4.3.2. Srovnání obrysu samčího a samičího křídla

CVA jsem dále použil ke zjištění, zda existuje rozdíl v tvaru obrysu křídla v závislosti na pohlaví. Pro tuto analýzu bylo nutné v případě samců odstranit ze zkoumané konfigurace tvarových proměnných ty landmarky, které zachycují ultrafialovou kresbu, a získat tak pouze obrys křídla. Analýzu kanonických variát jsem i v tomto případě provedl v programu MorphoJ. Mimo srovnání samčího a samičího křídla jsem se také pokusil odhalit rozdíl ve tvaroprostoru křídla mezi jedinci pouze z České republiky nebo z cizích lokalit sběru. Připomínám, že v případě samců je počet ČR: cizí roven 59:59, u samic 46:21. V úvahu přichází rozdělení i podle jednotlivých populačních celků, ale pro tento případ jsou lokality studovaných jedinců příliš rozptýleny. Níže uvedená tabulka obsahuje hodnoty prokrustovských vzdáleností mezi jednotlivými skupinami, včetně p -hodnot permutačního testu o 10 000 permutacích. Tyto hodnoty jsou spočítány na základě tvaroprostoru po odfiltrování vlivu diagonální délky křídla (viz následující kapitola). V grafu na obrázku 13 jsou zaneseny všechny čtyři skupiny, rozdělené podle pohlaví a podle místa původu. Graf je vytvořen v prostoru prvních dvou kanonických os, které vysvětlily přibližně 98% variance (CV1 popisuje 96,8%).

CVA: samci x samice, rozdíl v tvaru křídla, kompletní soubor			CVA: rozdíl tvaru obrysu křídla v závisl. Na pohlaví a lokalitě					
			samice, ČR		samice, cizí		samci, ČR	
			Pv	p	Pv	p	Pv	p
samice								
			0,0084	0,5552				
Pv								
p								
samci	0,0176	<.0001	0,0167	<.0001	0,0199	0,0002		
			0,0203	<.0001	0,0223	<.0001	0,0143	0,0001

Tab. 5 a 6. Analýza kanonických variát. V první tabulce (vlevo) je uvedena hodnota prokrustovské vzdálenosti (Pv), symbolizující rozdílnost tvaru analyzovaných samčích a samičích křídel, ve druhé tabulce jsou uvedeny hodnoty Pv pro skupiny rozdělené jak podle pohlaví, tak podle lokality. Výsledky byly podrobeny permutačnímu testu, jehož p -hodnoty jsou přiřazeny ke každé Pv. Signifikantní výsledky permutačního testu jsou označeny zelenou barvou.



Obr. 13. CVA. Rozdělení jednotlivých skupin podle pohlaví a lokality původu.

Z výsledných tabulek a grafického zobrazení je vidět jasná diference mezi samčím a samičím křídlem. V případě samců je pak signifikantní také rozdíl ve tvaru křídla mezi jedinci pocházejícími z České republiky a zbytkem datového souboru. Připomínám, že tyto výsledky se i v případě samců týkají pouze obrysu křídla bez UV-reflektantní kresby. Stejnou analýzu jsem proto provedl také pro celkový tvaroprostor křídla včetně kresby. Výsledné hodnoty uvádím již jen slovně. Hodnota prokrustovské vzdálenosti je v tomto případě 0,016 a p -hodnota permutačního testu 0,043. Z toho vyplývá, že rozdíl je signifikantní i v případě křídla včetně UV- kresby.

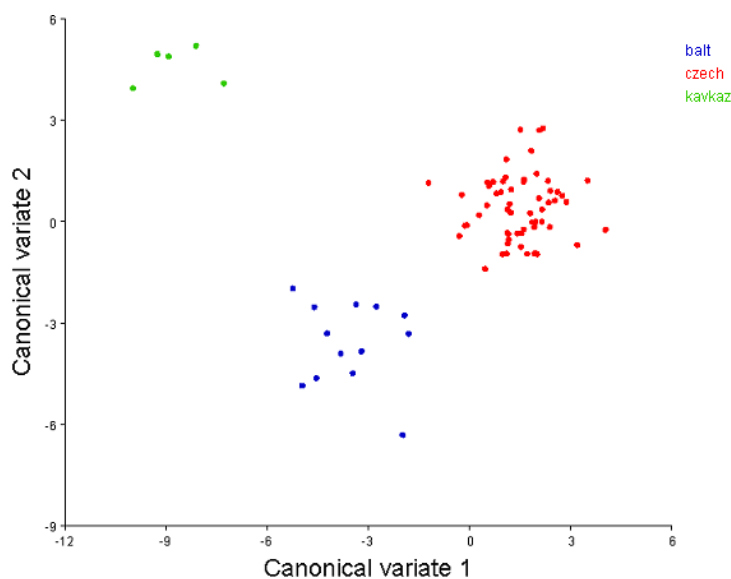
4.3.3. Tvarová diskriminace samců podle lokality původu

Na závěr jsem se pomocí analýzy kanonických variát pokusil zjistit, zdali je možné rozdělit tři skupiny samců z různých lokalit podle tvaroprostoru jejich křídel. První a největší skupinou jsou jedinci z území České republiky, kterých je v souboru 59. Druhá skupina zahrnuje 12 samců pocházejících ze severní části Pobaltí. Poslední skupinou jsou jedinci původem z Kavkazu (5). V následující tabulce opět uvádím hodnoty prokrustovských vzdáleností mezi studovanými skupinami a p -hodnoty permutačního testu (10 000 permutací). Grafické zobrazení výsledných hodnot v prostoru prvních dvou kanonických os, které vysvětlily 100% variability (CV1: 70,24; CV2: 29,76) je na obr. 14.

CVA: diskriminace jedinců podle lokality původu				
	Pobaltí		Česká republika	
	Pv	<i>p</i>	Pv	<i>p</i>
Česká republika	0,023	0,0291		
Kavkaz	0,0696	0,001	0,0581	0,0001

Tab. 7. Analýzy kanonických variát. Rozdělení samců do a priori určených lokalit podle tvaroprostoru jejich křídla vč. UV-reflektantní kresby. Zeleně označené *p*-hodnoty značí signifikantní rozlišení mezi skupinami.

Z tabulky 7 i přiloženého grafu (obr. 14) je patrné, že jedinci ze tří předem vybraných oblastí se opravdu liší v tvaroprostoru svého křídla. Největší prokrustovská vzdálenost je mezi tvarem křídla jedinců z Pobaltí a Kavkazské oblasti, rozdíl mezi jedinci z České republiky a Kavkazu je však velmi podobný a podle hodnoty permutačního testu ještě signifikantnější. Naopak nejbližší jsou si tvarem samci z České republiky a Pobaltí.



Obr. 14. Analýza kanonických variát. Odlišný tvar křídel samců v závislosti na lokalitě původu. Červené body náležejí jedincům z ČR, modře jsou označeni samci z Pobaltí, zeleně samci z oblasti Kavkazu.

V rámci datového souboru se nabízí také srovnání mezi dalšími lokalitami. Ovšem zde již nastává problém s malým počtem jedinců z jedné lokality, v případě Asie pak s častou kombinací poddruhů na jedné lokalitě. Taková analýza je v kapitole – Přílohy.

4.4. Mnohorozměrné regrese tvaru v závislosti na faktorech prostředí

S využitím mnohorozměrných regresních modelů jsem se pokusil objasnit, jak mohou různé environmentální faktory ovlivnit tvaroprostor křídla druhu *Gonepteryx rhamni*. Jako nezávislé proměnné jsem použil jak parametry geografické (latituda, longituda, altituda), tak různé ekologické proměnné, jako průměrnou roční teplotu, průměrné roční srážky, míru zelenosti krajiny (NDVI) a produktivitu prostředí (NPP). Počty studovaných jedinců pro hodnoty NDVI a NPP jsou nižší než pro ostatní proměnné, jelikož nebylo možné dohledat hodnoty těchto parametrů pro některé lokality. V případě NDVI se jedná o dva samce, zbývá jich tak 116. V případě produktivity prostředí nebylo možné určit tyto hodnoty pro 7 samců a 3 samice. V souborech analyzovaných na tento faktor tedy zbývá 111 samců a 64 samic. Závislou proměnnou je v této práci tvar. Veškeré analýzy jsem provedl na souboru samčích i samičích jedinců. V případě samců jsem mimo kompletní tvar křídla včetně UV-reflektantní kresby pozoroval také tvarovou variabilitu samotné kresby, následně jsem regresní analýze podrobil také samotný obrys křídla bez UV-kresby. Všechny uvedené analýzy byly opět provedeny na levém křídle.

4.4.1. Mnohorozměrné regrese tvaru – Samci, kompletní soubor

Hlavním tématem této práce je studium variability tvaru UV-reflektantních vzorů v závislosti na různých geografických a environmentálních proměnných. Jak bylo uvedeno, tyto ohraničené struktury mají na vrchní straně křídel pouze samci, proto jim bude věnována v tomto oddílu největší pozornost. V následujících analýzách kladu důraz především na celkový tvaroprostor křídla, tedy jak se mění tvar UV-reflektantní kresby vzhledem k obrysu křídla. Všechny regresní analýzy jsem provedl také odděleně na UV-reflektantní kresbě a tvaru křídla bez této kresby. Pomocí mnohorozměrné regrese tvaru jsem analyzoval také soubor jedinců pocházejících pouze z území České republiky a dalších vymezených oblastí. V souvislosti s variabilitou tvaru se nabízí ještě otázka, jak je tato proměnlivost ovlivněna velikostí křídla. Pro tuto analýzu jsem změřil jeho diagonální délku a pomocí regresní analýzy jsem se pokusil zjistit, zdali tvar křídla souvisí s jeho velikostí. V tabulce 8 uvádím výsledné hodnoty regresních analýz pro komplexní tvar křídla, UV-reflektantní kresby i obrysu křídla, včetně regrese tvaru na velikost křídla.

V tabulce je uvedena míra vysvětlené variability (R^2) pro každou nezávislou proměnnou a p -hodnota permutačního testu (1000 permutací).

SAMCI (118 jedinců)	UV + obrys křídla		UV-kresba		Obrys křídla	
	R^2	p -hodnota	R^2	p -hodnota	R^2	p -hodnota
latituda	0,113352	0,001	0,171533	0,001	0,041186	0,001
longituda	0,051375	0,002	0,099461	0,001	0,030128	0,003
altituda	0,049923	0,001	0,05953	0,001	0,024824	0,004
průměrná roční teplota	0,100196	0,001	0,135712	0,001	0,038786	0,001
průměrné roční srážky	0,115033	0,001	0,130652	0,001	0,042522	0,001
NDVI (116 jed.)	0,005362	0,676	0,002973	0,883	0,008978	0,384
NPP (111 jed.)	0,010764	0,256	0,021968	0,046	0,016574	0,063
diag. velikost křídla	0,062344	0,001	0,103205	0,001	0,027865	0,002

Tab. 8. Hodnoty regresních analýz tvaru kompletního tvaroprostoru křídla, samotné UV-reflektantní kresby a odděleného okraje křídla, pro nezávislé proměnné před odečtením velikosti. Zeleně označeny signifikantní hodnoty, bíle výsledky nesignifikantní.

Z uvedených výsledků je zřejmý poměrně významný vliv geografických i environmentálních faktorů na variabilitu celkového tvaroprostoru křídla včetně UV-reflektantního vzoru. Latituda, podobně jako průměrná roční teplota a průměrné roční srážky, vysvětluje více jak deset procent celkové variability. V případě oddělených tvarů kresby a obrysu křídla je vidět mnohem vyšší variability v UV-reflektantní kresbě - v případě latitudy dosahuje míra popsané variability více jak 17 %. Naopak vliv indexu míry zelenosti krajiny (NDVI) nebyl signifikantní v žádném případě. Vliv produktivity byl prokázán pouze v případě variability tvaru ultrafialové kresby. Jako vysoce signifikantní vychází také vliv délky křídla na rozsah tvarové variability. Cílem této práce je však zjistit, jak jednotlivé geografické a environmentální proměnné ovlivňují samotný tvar, proto jsem vliv velikosti na variabilitu tvaru odstranil. Toho jsem docílil regresí tvaru na centroid size (CS). Další analýzy jsem provedl s pomocí tvarových residuálů po této regresii. V následující tabulce jsou již hodnoty po odfiltrování vlivu velikosti na výsledný tvar, udávají tedy čistý vliv jednotlivých proměnných na tvarovou variabilitu. V tabulce je uvedena míra vysvětlené variability (R^2) pro každou nezávislou proměnnou a p -hodnota permutačního testu (1000 permutací).

SAMCI (118 jedinců)	UV + obrys křídla		UV-kresba		Obrys křídla	
	R ²	p-hodnota	R ²	p-hodnota	R ²	p-hodnota
latituda	0,070088	0,001	0,094885	0,001	0,059264	0,001
longituda	0,029786	0,012	0,058027	0,001	0,028709	0,014
altituda	0,037118	0,005	0,035508	0,002	0,023835	0,025
průměrná roční teplota	0,069706	0,001	0,081787	0,001	0,058769	0,001
průměrné roční srážky	0,089973	0,001	0,08813	0,001	0,064165	0,001
NDVI (116 jed.)	0,01091	0,236	0,002212	0,96	0,002687	0,63
NPP (111 jed.)	0,01301	0,166	0,023696	0,036	0,011266	0,225

Tab. 9. Výsledné hodnoty mnohorozměrných regresních modelů po odečtení vlivu velikosti na variabilitu tvaru. Zeleně označené hodnoty jsou statisticky signifikantní.

Hodnoty uvedené v tabulce 9 jsem nadále bral jako výchozí. I po odečtení tvarové variability způsobené velikostí křídla jsou signifikantní stejné proměnné jako v předchozím případě. Nepochybně ve všech případech opět zůstal vliv NDVI a krom UV-reflektantní kresby i význam produktivity (NPP) pro sledovanou proměnlivost. Hodnoty vysvětlené variability se po tomto kroku ve většině případů o několik procent snížily, obzvláště v případě kresby, v menší míře pak v komplexním obrazu celého tvaroprostoru křídla. Naopak při analýze samotného obrysu křídla se procento vysvětlené variability některými proměnnými nezanedbatelně zvýšilo, obzvláště v případě latitudy, průměrné roční teploty a srážek. Z tabulky je také patrné, že všechny proměnné vysvětlují nejvyšší míru variability v případě kresby oddělené od zbytku křídla.

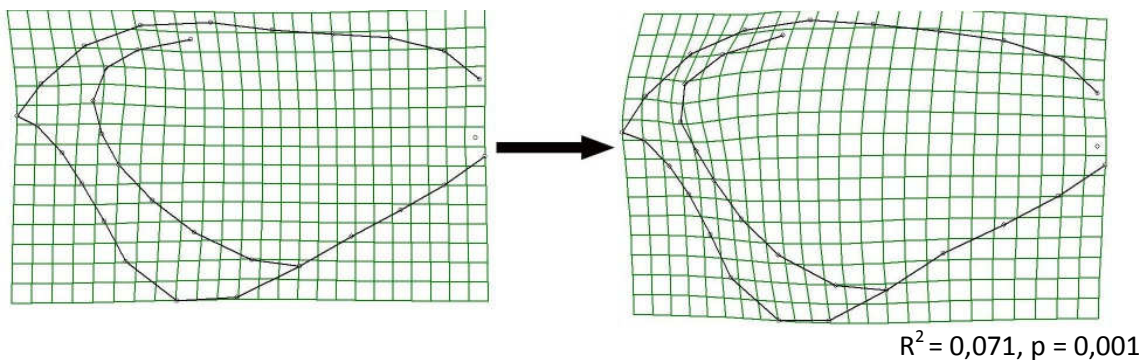
Při pohledu na výsledná data je zřejmá výrazná variabilita křídla podél latitudinálního gradientu. Tvar UV kresby má největší podíl na vysvětlené variabilitě tvaroprostoru křídla. V případě longitudy a nadmořské výšky jsou hodnoty nižší, ovšem stále signifikantní. Environmentální proměnné jsou schopny objasnit podobné procento variability jako latitudinální gradient a ve všech třech případech jsou nejvýznamnějším faktorem průměrné roční srážky. V následující části se zaměřím na změny deformační mřížky probíhající podél jednotlivých proměnných, respektive na míru a směr transformace celé konfigurace landmarků jednoho křídla. Stejně jako v předchozích analýzách se vždy jedná o křídlo levé.

4.4.1.1. Regrese tvaru samčího křídla na sledovaných proměnných

Latituda

Sever

Jih



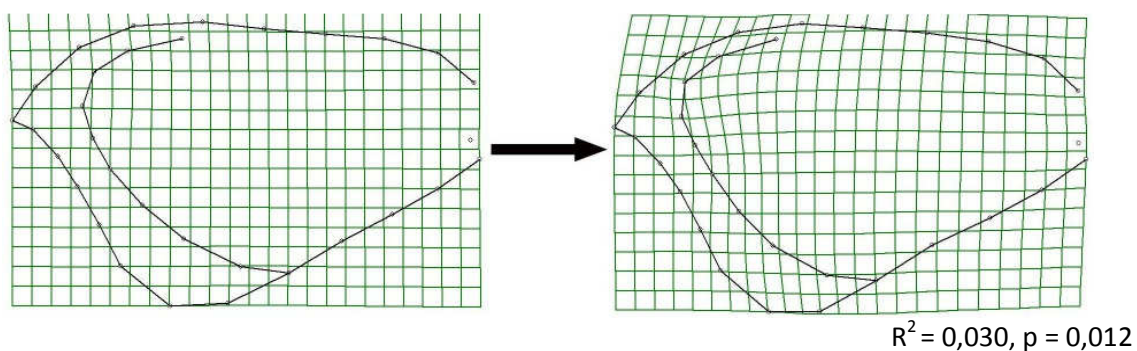
Obr. 15. Zakřivení deformační mřížky po regresi tvaru křídla na latitudinálním gradientu, od severu k jihu. Obrázky zobrazují maxima tvarové deformace v pozorovaném měřítku.

Z obrázku 15 je i při zobrazení v reálném měřítku pozorovatelná transformace tvaru křídla i UV-reflektantní kresby v závislosti na měnící se zeměpisné šířce. Směrem k jihu dochází k zaoblování křídla, zvláště na horním okraji křídla. Zároveň dochází k relativnímu zvětšení UV-reflektantní kresby vzhledem k okraji křídla.

Longituda

Západ

Východ



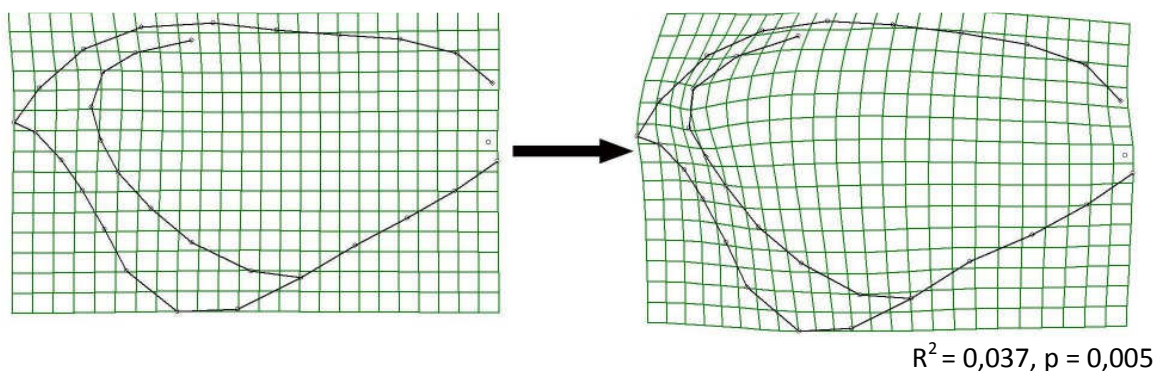
Obr. 16. Mnohorozměrná regrese tvaru na longitudě, zobrazeny krajní hodnoty tvarové deformace ve směru od západu východu.

Ve směru od západu na východ dochází i po odfiltrování vlivu velikosti křídla k určité změně tvaru, i když není tak patrná jako v případě zeměpisné šířky. S rostoucí zeměpisnou délkou, směrem na východ, opět dochází k deformaci křídla, obzvláště jeho horního okraje. UV-reflektantní kresba se mění jen pozvolna, ale i tak je patrné její přiblížení k okraji křídla.

Altitude

Minimum

Maximum



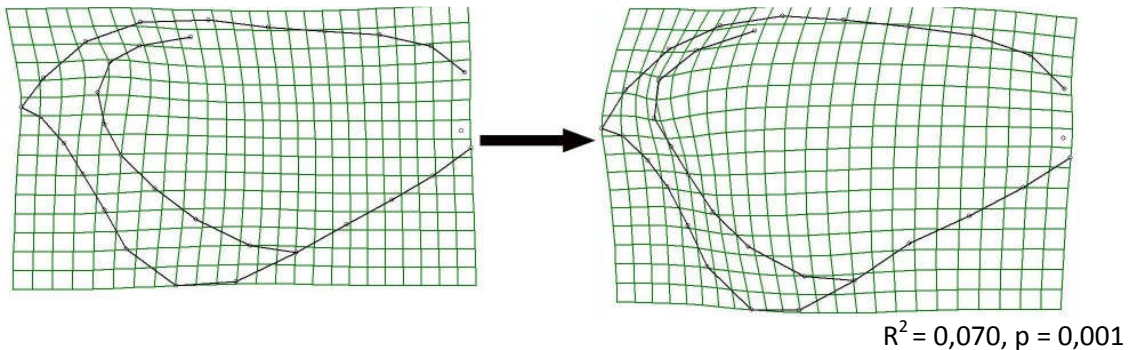
Obr. 17. Mnohorozměrná regrese tvaru na altitudě, zobrazeny krajní hodnoty tvarové deformace od nejnižší nadmořské výšky po nejvyšší.

S rostoucí nadmořskou výškou vykazuje křídlo velmi podobnou transformaci tvaru jako v případě zeměpisné šířky směrem k rovníku. V nížině má křídlo spíše protáhlý charakter, s rostoucí nadmořskou výškou se zaobluje, obzvláště jeho horní okraj. UV-reflektantní kresba se vzhledem k celé ploše křídla zvětšuje a zároveň se také okraj křídla pod apexem prohýbá směrem ke kresbě.

Průměrná roční teplota

Minimum

Maximum



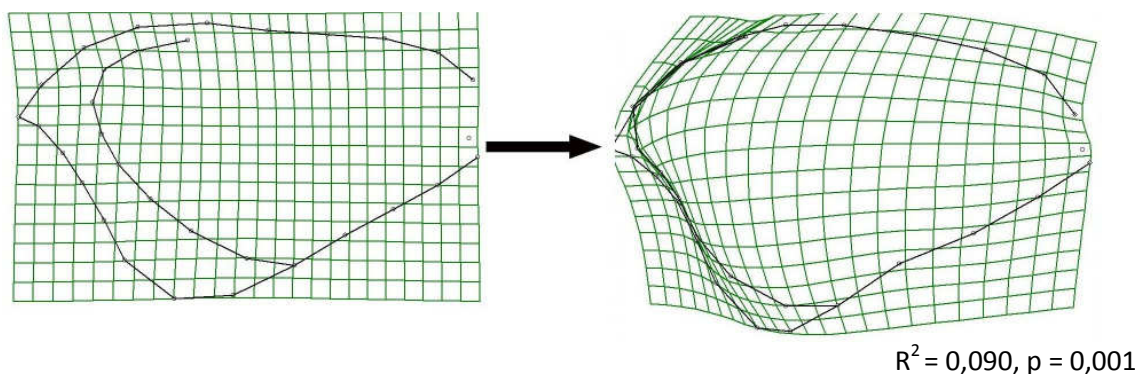
Obr. 18. Mnohorozměrná regrese tvaru na průměrné roční teplotě, zobrazeny krajní hodnoty tvarové deformace od teploty nejnižší k nejvyšší.

Hodnoty průměrné roční teploty již vysvětlují téměř sedm procent celkové pozorované variability. Jedinci v chladnějších oblastech mají křídlo protáhlé a UV-vzor se vůči křídlu relativně zmenšuje. Se vzrůstající teplotou vykazuje křídlo podobnou tvarovou změnu jako v předchozím případě, navíc ještě výraznější, ať už v „nafukování“ křídla, nebo v zvětšujícím se poměru UV-kresby na křídle.

Průměrné roční srážky

Minimum

Maximum



Obr. 19. Mnohorozměrná regrese tvaru na průměrných ročních srážkách, zobrazeny krajní hodnoty tvarové deformace od nejnižších průměrných srážek po nejvyšší.

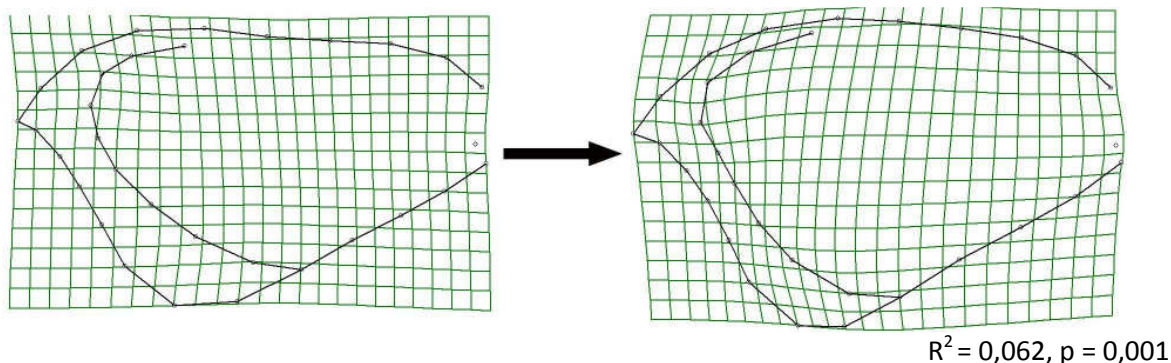
Průměrné roční srážky vysvětlují jednoznačně nejvíce celkové variability a míra tvarové deformace tomu odpovídá. S rostoucím množstvím srážek se křídlo výrazně zaobluje, především v horní části. UV-reflektantní kresba vykazuje vzhledem k okraji křídla velmi výraznou změnu a u jedince z oblasti nejvyšších průměrných srážek se téměř dotýká okraje křídla.

Regrese velikosti na tvar křídla

I přesto, že všechny výše uvedené vizualizace jsou vytvořené až po odečtení vlivu velikosti na tvaroprostor křídla, uvádím pro celistvost také vyobrazení původní transformace podoby křídla, vysvětlené právě diagonální velikostí křídla.

Minimum

Maximum

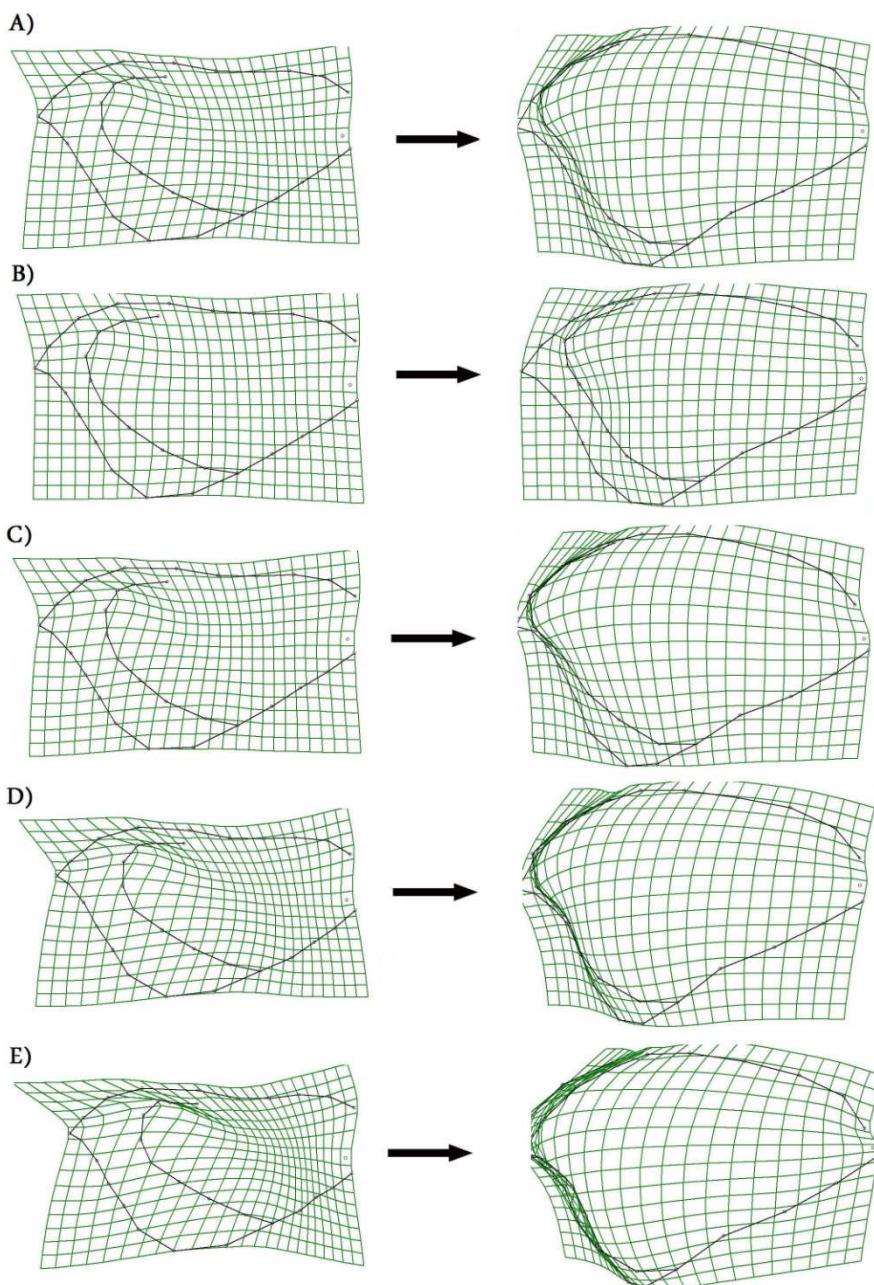


Obr. 20. Regrese tvaru křídla na jeho diagonální délku.

Z obrázku 20 je patrná podobná změna tvaru jako v případě předchozích proměnných. Menší křídlo je spíše protáhlého tvaru, s rostoucí velikostí se stejně jako v případě ostatních proměnných zaobluje, obzvláště v horní části. UV-reflektantní kresba se vzhledem k celkové velikosti křídla zvětšuje a přibližuje se k okraji. Ovšem z výše uvedených zobrazení je patrné, že i po odečtení vlivu velikosti na tvar křídla je význam ostatních proměnných na variabilitu tvaru stále statisticky prokazatelný, velikostí byl v některých případech jen umocněn.

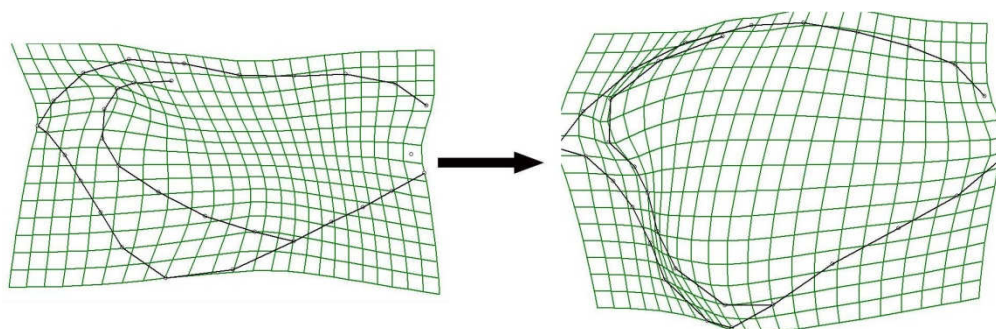
4.4.1.2. Násobné efekty provedených regresí

Vizualizace regrese tvaru dalších proměnných (NDVI a NPP), jejichž vliv na transformaci tvaru nebyl signifikantní, zde již nebudu uvádět. Na následujícím obrázku je soubor všech uvedených tvarových regresí. Pro jasnější představu o směru a míře deformace mřížky je efekt umocněn na trojnásobnou hodnotu oproti pozorování.



Obr. 21. Transformace deformační mřížky a změna tvaroprostoru křídla na studovaných proměnných. Oproti pozorování je efekt umocněn na trojnásobnou hodnotu. A) latituda (sever-jih), B) longituda (západ-východ), C) altituda (min-max), D) průměrná roční teplota (min-max), E) průměrné roční srážky (min-max).

Na obrázku 21 jsou ještě výrazněji patrné všechny transformace tvaru okraje křídla a změny ve tvaru a plochy kresby vůči celé ploše křídla. A právě kresba na první pohled představuje větší míru variability, což odpovídá výsledným hodnotám v tabulce. Zatímco tvar křídla je v maximálních hodnotách téměř zaměnitelný, kresba se například v případě průměrných ročních srážek dotýká okraje křídla téměř celou plochou. V případě latitudy a altitudy se tento jev týká především její horní části. Longitudinální efekt opět představuje spíše prohýbání a vyklenutí horního okraje křídla. Pro ilustraci opět přidávám také regresi tvaru na velikosti před jejím odfiltrováním.



Obr. 22. Regrese tvaru na diagonální délce křídla, výsledný efekt 3x umocněn.

V případě regrese tvaru na velikosti křídla je po trojnásobném zvýraznění deformačního efektu patrná podobná změna v obrysu křídla jako u předchozích regresí, ale mimo horní okraj dochází k silné deformaci mřížky také v levém spodním okraji, který je v daném směru jakoby vytahován. Ve stejném smyslu pak dochází i k deformaci UV-reflektantní kresby, což je poněkud odlišný trend od předešlých regresí, kdy se kresba přibližovala okraji křídla především v horní polovině.

4.4.1.3. Mnohorozměrné regrese tvaru – Samci, Česká republika

Mnohorozměrné regrese na výše uvedených nezávislých proměnných jsem provedl také samostatně na souboru jedinců pocházejících z území České republiky. Tento soubor čítal celkem 59 samců. Ani jeden z testů však nebyl signifikantní, proto výsledky těchto analýz nebudu uvádět.

4.4.1.4. Další výsledky mnohorozměrných tvarových regresí

Datový soubor všech samců je již na první pohled poměrně rozsáhlý, navíc velká část studovaných jedinců pochází z oblasti střední Evropy. Nabízí se tak otázka, jakým způsobem se tvar křídla mění v rámci menších oblastí a zdali se v menším měřítku projeví podobné trendy ve tvarové proměnlivosti jako v analýze kompletního datového souboru. Nabízí se mnoho různých způsobů, jak soubor rozdělit. V následující kapitole se pokusím představit šest takových, které považuji za nejvýznamnější z hlediska vlivu jednotlivých proměnných na změny v tvaroprostoru křídla a UV vzoru. U jedinců z území České republiky nebyla žádná ze studovaných regresí tvaru signifikantní. Zaměřím se proto na rozsáhlejší oblasti, z pohledu této práce především na variabilitu v rámci Evropy. Všechny následující analýzy jsou provedeny v programu MorphoJ (Klingenberg, 2011), který umožňuje snadné rozdělení pozorovaných jedinců do studovaných skupin. Výsledné hodnoty jsou vždy podpořeny permutačním testem (10 000 permutací)

V návaznosti na analýzu kanonických variát, pomocí níž jsem analyzoval tvarovou rozdílnost mezi jedinci z České republiky, Pobaltí a Kavkazu (kap. 4.3.3.), jsem na tomtéž datovém souboru provedl regresní analýzu, pomocí které jsem se pokusil odhalit, které nezávislé proměnné se v rámci těchto tří oblastí podílejí na tvarové diverzifikaci (tab. 10). Analýzu jsem následně provedl také na souboru jedinců pouze z území ČR a Pobaltí (tab. 11), jež jsou si vzájemně mnohem bližší, než je ke každé z nich skupina jedinců z oblasti Kavkazu.

SAMCI: ČR+Balt+Kavkaz	UV + obrys křídla		SAMCI: ČR+Balt	UV + obrys křídla	
77 jedinců	R^2	p	72 jedinců	R^2	p
latituda	0,066468	0,0008	latituda	0,031987	0,0437
longituda	0,051765	0,0038	longituda	0,025369	0,0893
altituda	0,020294	0,1501	altituda	0,025923	0,0792
průměrná roční teplota	0,079674	0,0002	průměrná roční teplota	0,024274	0,1038
průměrné roční srážky	0,107391	<.0001	průměrné roční srážky	0,01675	0,2633
NDVI (76 jed.)	0,041645	0,0137	NDVI (71 jed.)	0,008282	0,7646
NPP (73 jed.)	0,064102	0,002	NPP (68 jed.)	0,013742	0,4375
diag. velikost křídla	0,012433	0,4036	diag. velikost křídla	0,010766	0,5693

Tab. 10 a 11. Mnohorozměrné tvarové regrese na jedincích z území ČR, Pobaltí a Kavkazu. Popis v textu. Zeleně jsou označeny signifikantní hodnoty vysvětlené tvarové variability (R^2).

Tabulka 11 napovídá, že v rámci ČR a Pobaltí jsou trendy tvarové proměnlivosti neprokazatelné v závislosti na většině nezávislých proměnných. Jedinou signifikantní proměnnou je v tomto případě latituda. Již při pohledu na hodnoty nezávislých proměnných v datovém souboru je patrné, že rozmezí hodnot je v tomto případě poměrně nízké, až na mírně odlišné hodnoty průměrné roční teploty, která však signifikantní nebyla. Se zařazením jedinců z Kavkazu se již většina dříve pozorovaných trendů objevuje v poměrně významných hodnotách a signifikantní jsou také hodnoty NDVI a NPP. Za zmínku stojí, že vliv nadmořské výšky v tomto testu signifikantní nebyl.

V souvislosti s těmito výsledky jsem další analýzy provedl na souboru všech evropských jedinců, nejprve opět se zahrnutím samců z oblasti Kavkazu (tab. 12), následně pouze s jedinci z lokalit do 30° stupně východní délky (tab. 13).

SAMCI: Evropa vč. Kavkazu	UV + obrys křídla		SAMCI: Evropa do 30° v. d.	UV + obrys křídla	
98 jedinců	R ²	p	92 jedinců	R ²	p
latituda	0,040626	0,0019	latituda	0,02444	0,0407
longituda	0,029385	0,0166	longituda	0,013187	0,2683
altituda	0,024398	0,037	altituda	0,032122	0,0109
průměrná roční teplota	0,023453	0,0421	průměrná roční teplota	0,010578	0,4145
průměrné roční srážky	0,07031	<.0001	průměrné roční srážky	0,011019	0,3816
NDVI (97 jed.)	0,005828	0,692	NDVI (91 jed.)	0,006795	0,6912
NPP (91 jed.)	0,037618	0,0059	NPP (85 jed.)	0,007503	0,744
diag. velikost křídla	0,01974	0,0771	diag. velikost křídla	0,019334	0,0917

Tab. 12 a 13. V tabulce nalevo jsou uvedeny výsledky mnohorozměrných regresních analýz na souboru jedinců z celé Evropy, včetně Kavkazu. Napravo jsou pak hodnoty jedinců z lokalit do 30° východní délky. Zeleně označeny jsou signifikantní hodnoty vysvětlené tvarové variability.

Z výše uvedených hodnot (tab. 13) je patrný opět poměrně slabý vliv environmentálních proměnných na tvarovou variabilitu křídla v rámci střední Evropy, Pobaltí a několika jedinců z přilehlých oblastí. Výsledky jsou podobné předchozí analýze (tab. 11). Signifikantní je opět pouze závislost změny tvaru na latitudě a v tomto případě také na nadmořské výšce. Se zařazením jedinců z Východní Evropy a Kavkazu jsou již opět patrné podobné vlivy na změny tvaru jako v předchozích analýzách, pouze s nižšími hodnotami vysvětlené variability a nesignifikantní v případě NDVI.

Na závěr považuji za významný pro představu o celkovém vlivu různých proměnných na tvarovou variabilitu v celém souboru i to, jaké jsou tyto trendy bez zahrnutí území ČR do následných analýz (tab. 14). Dále mne zajímalo, jaký vliv mají nezávislé proměnné na variabilitu tvaru pouze se zahrnutím jedinců z území Asie, opět se začleněním jedinců z oblasti Kavkazu (tab. 15), která je hranicí Evropy a Asie. Jedinci z této oblasti často pocházejí z míst s velmi rozdílnou nadmořskou výškou, stejně tak panuje velká diverzita v ostatních sledovaných proměnných.

SAMCI: pouze cizí (bez ČR)	UV + obrys křídla		SAMCI: Asie vč. Kavkazu.	UV + obrys křídla	
59 jedinců	R ²	p	25 jedinců	R ²	p
latituda	0,172955	<.0001	latituda	0,162665	0,0126
longituda	0,067888	0,0083	longituda	0,019253	0,7279
altituda	0,074924	0,0051	altituda	0,06866	0,1615
průměrná roční teplota	0,155404	<.0001	průměrná roční teplota	0,17969	0,0087
průměrné roční srážky	0,170763	<.0001	průměrné roční srážky	0,162794	0,0116
NDVI (58 jed.)	0,011855	0,5819	NDVI	0,022201	0,6489
NPP (52 jed.)	0,023752	0,2596	NPP	0,042404	0,3413
diag. velikost křídla	0,122037	<.0001	diag. velikost křídla	0,080009	0,1187

Tab. 14 a 15. Výsledky mnohorozměrných tvarových regresí na samcích mimo ČR (vlevo) a na samcích z celé Asie, včetně Kavkazu (vpravo).

Z tabulky 14 vyplývají podobné výsledky jako následně z analýzy souboru všech samců. Některé hodnoty jsou výrazně vyšší, avšak uvádím výsledky před odečtením vlivu velikosti, která je v tomto případě velmi signifikantní. V rámci jedinců z území Asie (tab. 15) jsou hodnoty celkové variability vysvětlené v rámci latitudinálního gradientu, průměrné teploty a srážek velmi podobné. Změna tvaru podél longitudy či s rostoucí nadmořskou výškou signifikantní není.

4.4.1.5. Vzájemný vztah nezávislých proměnných - korelace

Pro komplexní pohled na strukturu datového souboru a pro důkladnější interpretaci výsledných dat jsem se pokusil odhalit také vztah mezi všemi použitými nezávislými proměnnými. Z toho důvodu jsem provedl korelace všech uvedených matic. Korelační vztahy mezi nezávislými proměnnými uvádím pouze na příkladu samců, kteří

jsou pro následující mnohorozměrné regrese tvaru nejdůležitější. Jelikož hodnoty proměnných nevykazovaly normální rozdělení, použil jsem pro zjištění korelačních koeficientů Spearmanův korelační koeficient.

Korelace mezi použitými nezávislými proměnnými - Spearmanův korel. koeficient							
	longituda	altituda	teplota	srážky	NDVI	NPP	diag_vel.
latituda	-0,315**	-0,559**	-0,562**	-0,503**	0,166	-0,154	-0,544**
longituda	X	0,072	0,034	0,221*	-0,056	-0,186	0,232*
altituda	X	X	0,069	0,467**	0,043	-0,163	0,279**
teplota	X	X	X	0,304**	-0,347**	0,502**	0,347**
srážky	X	X	X	X	0,132	0,083	0,307**
NDVI	X	X	X	X	X	-0,312**	-0,166
NPP	X	X	X	X	X	X	0,014

** hodnota hladiny signifikance je nižší než 0,01

* hodnota hladiny signifikance je nižší než 0,05

Tab. 16. Korelační tabulka se vztahy všech nezávislých proměnných použitých při mnohorozměrných tvarových regresích.

Zároveň s korelacemi geografických a environmentálních proměnných jsem také srovnal geografické proměnné vzájemně, což odhalilo vztahy patrné již z obrázku 3, který zobrazoval rozložení lokalit původu jednotlivých objektů. Vztah latitudy a longitudy napovídá faktu, že s postupem na východ (vyšší hodnoty longitudy) se lokality sběru blíží k jihu (nižší hodnota latitudy). Stejně tak existuje poměrně silný vztah mezi nižší latitudou a vyšší nadmořskou výškou. Zcela dle předpokladu je nejvýznamnější růst teploty směrem k rovníku. Podobně roste i množství průměrných ročních srážek směrem k jihu. Srážky korelují pozitivně také s teplotou. S teplotou korelují také hodnoty NDVI a NPP, míra zelenosti krajiny negativně, míra produktivity prostředí pozitivně, platí tedy, že s vyšší teplotou se podle předpokladu zvyšuje i produktivita prostředí. Diagonální délka křídla významně roste směrem k rovníku, ale také s longitudou, tedy východním směrem. Tomu odpovídá pozitivní korelace velikosti s teplotou, v menší míře také s průměrnými srážkami.

4.4.2. Mnohorozměrné regrese tvaru – Samice, kompletní soubor

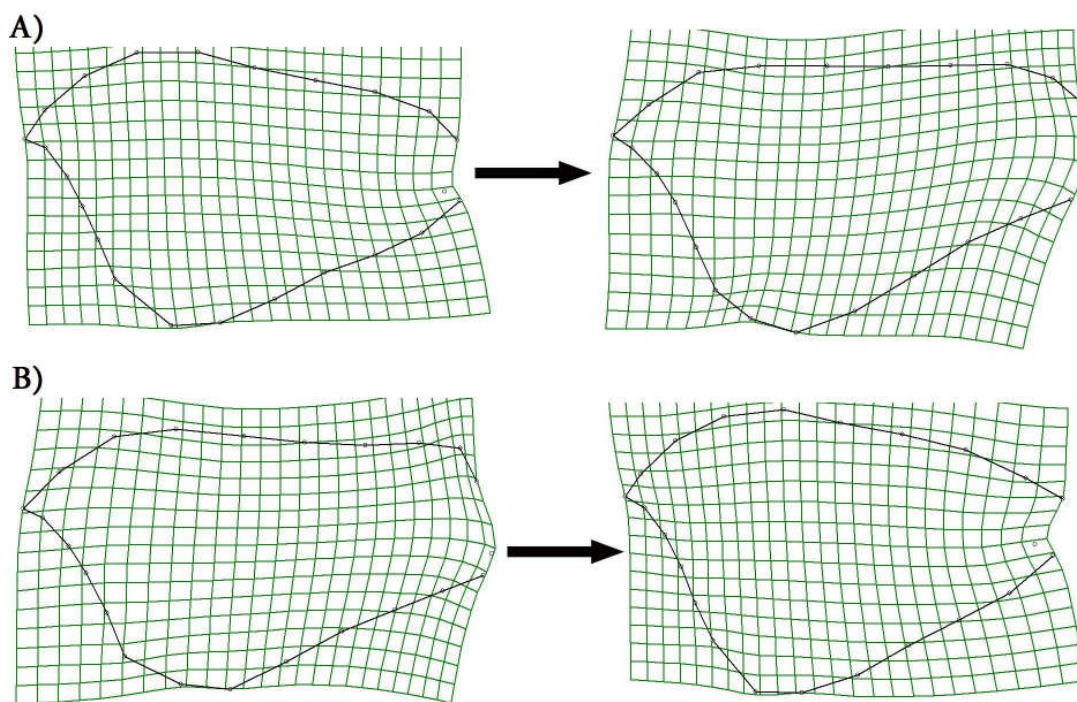
Mnohorozměrné tvarové regrese za použití všech výše uvedených nezávislých proměnných jsem provedl také na kompletním datovém souboru, který čítal 67 samic. Z toho 46 z území České republiky a 21 z nejrůznějších oblastí Evropy a Blízkého východu. V případě samičího křídla je analýza jednodušší než u samců, jelikož vrchní strana křídla postrádá UV-reflektantní kresbu. Míra produktivity prostředí byla spočítána pouze pro 64 jedinců, jelikož u tří nebylo možné data pro tento faktor dohledat. V tomto případě jsem opět provedl regresi tvaru na naměřenou diagonální velikost křídla. Ač v tomto případě nebyla signifikantní, provedl jsem podobně jako u mnohorozměrných tvarových regresí u samců regresi tvaru na centroid size a provedl všechny analýzy s výslednými residuály, čímž jsem odfiltroval vliv velikosti na tvar. Níže uvedené tabulky zahrnují analýzy jak před, tak po odečtení velikosti.

SAMICE (67 jedinců)	Obrys křídla		SAMICE (67 jedinců)	Obrys křídla	
	R^2	p		R^2	p
latituda	0,021937	0,142	latituda	0,022436	0,137
longituda	0,027631	0,077	longituda	0,027503	0,081
průměrná roční teplota	0,020937	0,194	průměrná roční teplota	0,021277	0,189
průměrné roční srážky	0,026743	0,068	průměrné roční srážky	0,027883	0,059
altituda	0,029019	0,055	altituda	0,030369	0,047
NDVI	0,009884	0,729	NDVI	0,010938	0,647
NPP (64 jedinců)	0,03481	0,026	NPP (64 jedinců)	0,031302	0,043
diag. velikost křídla	0,026716	0,078			

Tab. 17 a 18. Výsledky mnohorozměrných tvarových regresí na souboru 67 samic. V první tabulce (vlevo) jsou hodnoty vysvětlené variability (R^2) a hodnoty permutačního testu (p) před odečtením vlivu velikosti na tvar. V druhé tabulce (vpravo) jsou již hodnoty po odečtení CS. Zeleně jsou označeny signifikantní hodnoty, bíle hodnoty nesignifikantní.

Na první pohled je z tabulek 17 a 18 patrné, že v případě samic byla většina tvarových regresí nesignifikantní, i když v mnoha případech se hranici potvrzení velmi přibližuje. Před odfiltrováním vlivu velikosti byl signifikantní pouze vliv produktivity prostředí (NPP) na vysvětlenou tvarovou variabilitu. Po odfiltrování velikosti byl signifikantní i význam altitudy na proměnlivost tvaru křídla. Míra produktivity i nadmořská výška popisují přibližně tři procenta pozorované variability. Na následujícím obrázku jsou

vizualizované tvarové deformace vysvětlené dvěma významnými proměnnými, v tomto případě je míra deformace mřížky třikrát znásobena, jelikož v reálném hledisku byl rozdíl mezi krajními hodnotami málo patrný.



Obr. 24. Deformační mřížky zobrazující krajní hodnoty tvarové variability vysvětlené A) altitudou ($R^2 = 0,030369$, $p = 0,047$); B) mírou produktivity prostředí – NPP ($R^2 = 0,031302$, $p = 0,043$). Vlevo jsou hodnoty minimální, napravo maximální. Výsledné zakřivení mřížky jsou třikrát násobené oproti reálně pozorovaným deformacím.

Z obrázku 24 je patrné, že tvar samičího křídla vykazuje poněkud jiné tvarové deformace, než jak tomu bylo u samců. (A) V nižší nadmořské výšce je samičí křídlo spíše kompaktní, s podobnou šířkou i výškou. S rostoucí nadmořskou výškou dochází k jeho protahování v horizontálním směru a napřimování horního okraje křídla. (B) V případě míry produktivity krajiny je trend podobný, ale v obráceném směru. V místech s nižší produktivitou je vertikální osa křídla užší a dochází k jeho protahování v horizontálním směru. Se zvyšující se produktivitou dochází k patrnému zaoblování křídla.

4.4.2.1. Mnohorozměrné regrese tvaru – Samice, Česká republika

Mnohorozměrné tvarové regrese na uvedených proměnných jsem stejně jako u samců, provedl také na samicích nalezených pouze na území České republiky. V tomto případě se jednalo o 46 jedinců. Avšak ani v tomto případě nebyla žádná z regresních analýz signifikantní, proto je zde již neuvádím.

5. Diskuze

5.1. Variabilita tvaroprostoru křídla a UV-reflektantní kresby

Výsledné hodnoty a vizualizace analýzy relativních warpů (RWA) ukazují na výraznou variabilitu tvaroprostoru křídla druhu *Gonepteryx rhamni*. Z obrázku 10 jsou patrné hlavní tvarové změny, které v souboru probíhají. První PCA osa ukazuje na výrazný trend zvětšování této kresby vzhledem k ploše křídla. Zároveň je patrné určité zaoblování obrysu křídla. Tento trend ve změně tvaroprostoru byl patrný u výsledků mnoha tvarových regresí.

Pomocí analýzy kanonických variát (CVA) jsem prokázal, že některé poddruhy *G. rhamni* se liší v tvaroprostoru křídla a UV-reflektantní kresby. Počty jedinců různých poddruhů však byly značně nevyvážené a je pravděpodobné, že při analyzování většího počtu jedinců každého poddruhu by byly výsledné hodnoty směrodatnější. Výsledky i tak napovídají, že tvaroprostor křídla včetně UV-reflektantního vzoru by mohl alespoň v případě rodu *Gonepteryx* sloužit jako pod-/druhově specifický znak. V určení mnoha poddruhů panují stále nejasnosti a některé zde uvedené poddruhy jsou jinde určeny i jako samostatné druhy (např. *G. rhamni maxima*).

Tvar křídla se liší také mezi samci a samicemi. Signifikantní rozdíl při rozdělení podle lokality byl signifikantní pouze u samců. To může být dáno jednak tím, že samic bylo v analyzovaném souboru výrazně méně než samců, navíc pouze 21 samic (z celkových 67) nepocházelo z území ČR. Další možností je, že vzorek cizích samic nebyl zdaleka tak rozsáhlý a téměř chyběly exempláře z Asie (tedy i extrémně z vysokých nadmořských výšek či míst s velkým úhrnem průměrných ročních srážek).

Pomocí CVA jsem testovat také tvarovou rozdílnost populací pocházejících z různých oblastí. Porovnání tří a priori vybraných skupin (ČR, Balt, Kavkaz) ukázalo jejich vzájemnou tvarovou odlišnost. Dle hodnot prokrustovských vzdáleností jsou si nejbližší samci z ČR a Pobaltí, tvarově nejvzdálenější byla skupina z oblasti Kavkazu. Další reprezentativní skupinou jsou jedinci z území Indie, kteří náležejí k poddruhu *G. rhamni*

nepalensis. Ten byl však již v předchozím testu signifikantně tvarově odlišen od druhu *G. rhamni*. Analýzu jedinců rozdělených do třinácti skupin podle lokality nálezů uvádím v první části Příloh.

5.2. Vliv prostředí na tvaroprostorovou variabilitu křídla a UV-reflektantní kresby

Dále jsem testoval vliv environmentálních proměnných jak na samotný tvar, tak na tvar před odfiltrováním vlivu velikosti. V souvislosti s tímto se nabízí otázka, je-li opravdu vhodné od výsledného tvaru tento vliv odečíst, zdali se tímto krokem nepřipravuji o nedílnou část přirozené variability tvaroprostoru křídla. Z toho důvodu jsem uvedl také hodnoty před odečtením vlivu velikosti. Trend ve změně tvaru v závislosti se ani v jednom ze studovaných případů nezměnil, snížila se pouze hodnota vysvětlené variability.

Z analýzy vlivu prostředí odděleně na tvar křídla a UV-kresbu vyplývá, že plasticita ultrafialové kresby je mnohem výraznější, je však třeba zdůraznit, že kresba byla popsána pouze devíti landmarky, zatímco obrys křídla je definován jedenácti landmarky a dvanácti semilandmarky, které zachycují jeho tvar mnohem komplexněji. Pro pochopení a interpretaci pozorované variability je proto nutné brát celý komplex křídla a sledovat změny tvaru UV- kresby vůči okraji křídla.

Rozložení datového souboru není zcela rovnoměrné, proto jsem analyzoval také různé dílčí datové soubory. Z výsledků plyne, že na menším území se výsledné tvarové trendy téměř neprojeví. Při pohledu na datový soubor však nebyly výsledné hodnoty příliš překvapivé, jelikož rozsah pozorované tvarové variability i hodnot nezávislých proměnných byl poměrně nízký. V jediném případě (tab. 10) byl signifikantní také vliv Indexu míry zelenosti (NDVI). Tento výsledek ale bude předěpodobně daný korelací NDVI s hodnotami průměrných ročních srážek a teploty. Na menším území (ČR) není vliv environmentálních faktorů na tvar křídla prokazatelný ani u samic. V případě analýzy samců z celé Palearktické oblasti bez zahrnutí jedinců z ČR či při analýze jedinců pouze z Asie byly hodnoty vysvětlené variability poměrně vysoké, v druhém případě ale nebyly v mnoha analýzách permutačním testem prokazatelné. Tento výsledek byl

pravděpodobně dán malým počtem studovaných jedinců a velmi vysokým rozsahem hodnot nezávislých proměnných. Navíc se jednalo o několik různých poddruhů.

Z těchto výsledků je patrné, že tvaroprostor křídla včetně UV-reflektantní kresby je ovlivňován kombinací mnoha různých faktorů a v případě různých oblastí mohou výsledné hodnoty vykazovat poněkud odlišný charakter. Proto jsem v zájmu odhalení co možná nejvíce odpovídajících hodnot vycházel z kompletního souboru všech samců.

5.2.1. Zhodnocení navržených hypotéz

První navrhovaná hypotéza předpokládá, že míra exprese struktur způsobujících UV-reflektantní kresbu je ovlivněna dostupností zdrojů, respektive produktivitou prostředí. Produktivita bývá obvykle dávana do souvislosti s několika základními faktory. Těmi jsou dostupnost vody, množství živin, výše teploty či délka fotoperiody. V závislosti na parametrech průměrné roční teploty a srážek dochází ke zvětšování UV-reflektantní kresby v rámci křídelní plochy. Tyto dva faktory dokonce vysvětlují největší množství celkové variability. Vliv faktoru produktivity prostředí (NPP) nebyl oproti tomu ve většině provedených analýz signifikantní. Prokazatelný vliv této proměnné byl pozorován v kompletním souboru všech samců pouze na tvarové variabilitě samotné UV-reflektantní kresby, v rámci celého tvaroprostoru křídla již nikoliv. Nesignifikantní hodnoty parametru NPP v rámci celého datového souboru i různých dílčích mohly být dány velkou rozmanitostí prostředí a větším vlivem ostatních proměnných.

Faktor produktivity prostředí byl ale signifikantní při analýze kompletního souboru samic. Je však nutné zdůraznit, že většina samic pocházela z evropské části Palearktické oblasti včetně Kavkazu a pouze dva exempláře pocházely z Asie (nejvýchodnější jedinec z území Kyrgyzstánu), proto pro srovnání se samci jsou nejvíce odpovídající hodnoty uvedené v tabulce 12. V tomto případě byl vliv NPP signifikantní také u samců. Spíše než v globálním pohledu by tedy mohl být vliv produktivity prostředí důležitý v rámci jednotlivých menších populací (např. tab. 10).

Další uvedená hypotéza předpokládala, že tvar se mění v souvislosti s longitudou. Tato závislost byla opravdu prokázána, i když po odečtení vlivu velikosti na tvar křídla byla

tímto faktorem vysvětlena necelá tři procenta celkové variability. Při prvním pohledu na datový soubor by bylo možné namítnout, že tento vliv se projevuje pouze kvůli struktuře datového souboru, jelikož asijské exempláře pocházejí spíše z oblastí nižších zeměpisných šířek (korelace s latitudou) a vyšších nadmořských výšek, kde je změna poměrně podobná a longitudinální efekt je pouze následným projevem této skutečnosti. Avšak při pohledu na regresní tvarové analýzy menších souborů výsledné hodnoty potvrdily tento vliv již v rámci Evropy (včetně Kavkazu), naopak při analýze asijských exemplářů tato proměnná nebyla signifikantní. Změna tvaru podél longitudinálního gradientu tedy pravděpodobně není jen druhotným efektem datového souboru, ale skutečným trendem v tvarové proměnlivosti. Tyto výsledky tedy potvrzují závěry práce Obary (2008). Autor zde tento fenomén dává do souvislosti s předpokladem, že předek druhu *Pieris napi* se vyvinul bez UV-reflektance v západní Evropě a šířil se východní směrem. UV-reflektance se u něj vyvinula až později a její evoluční výhoda spočívala v tom, že umožnila samcům snadnější rozpoznávání vhodného sexuálního partnera.

Třetí testovaná hypotéza (Meyer-Rochow et Järvillehto, 1997) předpokládá, že UV-reflektantní vzor by mohl fungovat jako ochrana před ultrafialovým zářením. Podle této hypotézy by se tedy měl tvar UV-reflektantního vzoru v rámci plochy křídla zvětšovat s vyšší nadmořskou výškou a v oblastech blíže k rovníku. Tento trend je na vizualizovaných výstupech mnohorozměrných regresí z obr. 15 a 17 zřetelný, a to jak v případě latitudy, tak nadmořské výšky. Pokud by tato hypotéza platila, zřejmě by mohlo docházet ke kombinaci efektů obou geografických proměnných. Při pohledu na konkrétní data, respektive na samce pocházející z oblasti severní Indie, kteří zároveň pochází z lokalit nejbližších rovníku (25 - 32° s. š.) a navíc se nacházejí průměrně v nejvyšší nadmořské výšce (700 - 2600 m. n. m.), je zřejmé, že tito samci mají kresby dosahující ve všech směrech téměř až k okraji křídla. Mají relativně větší kresbu také v porovnání s jedinci z podobné zeměpisné šířky, ale nižší nadmořské výšky. V tomto případě je ovšem nutné zdůraznit, že jedinci z oblasti Indie náleží poddruhu *G. rhamni nepalensis* a srovnávaným poddruhem je *G. rhamni amurensis*. V prvním případě se samozřejmě nabízí otázka, zdali větší kresba není jen specifickým znakem tohoto poddruhu, ale při opačném pohledu je možné, že právě tyto specifické podmínky stály za odlišením uvedeného poddruhu. Pro

ověření tohoto výsledku by bylo nutné zjistit také genetickou příbuznost mezi různými poddruhy.

Poslední uvedená hypotéza má stejně jako předešlá základ v práci Meyer-Rochow et Järvilehto (1997). K předpokládané změně tvaru opět využívám závěrů zjištěných v souvislosti s variabilitou intenzity UV-reflektance. Podle této hypotézy by mělo docházet k relativnímu zvětšování UV-vzoru v rámci plochy křídla ve vyšších zeměpisných šířkách. Pokud by tento efekt opravdu souvisel s nižším příkonem UV, měly by pak být také výraznější kresby v nižších nadmořských výškách. Z výsledků je patrný přesně opačný trend. Podle obrázku 15 je zcela zřejmé, že plocha UV-reflektantní kresby je v severních oblastech vzhledem k celé ploše křídla výrazně menší a směrem na jih se přibližuje okraji křídla. V případě souvislosti s množstvím dopadajícího záření je tento trend zcela opačný také v případě nadmořské výšky; ve vyšších polohách, kde je UV-záření více, jsou také větší UV-kresby vzhledem k ploše křídla (obr. 17).

Hypotéza o protektivní funkci UV-reflektantní kresby se na základě výsledků jeví jako nejlepší vysvětlení většiny pozorovaných efektů. Tato hypotéza předpokládá, že UV-reflektance chrání motýla před škodlivým krátkovlnným zářením v ultrafialové oblasti spektra. S přibližováním k rovníku i s rostoucí nadmořskou výškou pak do určité míry korelují hodnoty průměrné roční teploty a srážek, které jsou ve většině analýz nejsilnějšími prediktory tvarové variability.

5.2.2. Další možné příčiny pozorované variability

Průměrné roční srážky vysvětlily téměř ve všech provedených analýzách nejvyšší procento celkové variability. Jak ale tento faktor ovlivňuje tvar výsledné kresby? Jako jediný analogicky podobný příklad v rámci řádu Lepidoptera se nabízí plasticita v expresi „očí“ u okáčů (Satyrinae), studovaná v závislosti na sezonalitě klimatu (Brakefield et Larsen, 1984; Brakefield, 1987, Beldade et Brakefield, 2002). Polyfenismus v tomto konkrétním případě obvykle souvisí s variabilitou ve velikosti, tvaru i barevnosti křídla některých okáčů v závislosti na tom, je-li suché či deštivé období. V období dešťů jsou „očí“ na křídlech velmi dobře vyvinuté, v suchých téměř chybí a motýli jsou více kryptičtí.

Ovšem tyto práce byly provedeny většinou na tropických druhích. V případě okáčů bývá polyfenismus obvykle dáván do souvislosti s mírou predace, neboť v suchém je výhodné být období kryptický. Polyfenismus ve tvaru a kresbě křídla, který je obvykle pozorován u bivoltinních druhů motýlů, sice nemůže být vysvětlením variability u modelového druhu této práce, přesto jej považuji za důležitý, byť jen jako ukázkou výrazné fenotypové plasticity v řádu Lepidoptera. Otázkou tedy zůstává, jakým způsobem může faktor průměrných ročních srážek ovlivnit tvaroprostor křídla a UV-kresby u druhu *G. rhamni*.

V souvislosti s variabilitou tvaru křídla a UV-reflektantní kresby v závislosti na průměrné roční teplotě připadá v úvahu například vliv rychlosti metabolismu na tuto proměnlivost. Většina autorů se otázkou vlivu teploty na plasticitu fenotypu a životních strategií opět zabývá na příkladu tropických druhů (Fischer et Karl, 2010; Jong et al., 2010). V závislosti na latitudě či teplotě je možné u ektotermních živočichů pozorovat jak zmenšování těla s teplotou, tak i jeho zvětšování. Ačkoli se Bergmanovo pravidlo týká pouze endotermních živočichů, mnozí autoři jej dávají do souvislosti i s živočichy ektotermními. V případě druhů, jejichž tělesná velikost směrem k rovníku narůstá, pak navrhuji tzv. obrácené Bergmanovo pravidlo (Mousseau, 1997), které v případě měření délky křídla platí právě u mnoha druhů motýlů (Blanckenhorn et Demont, 2004). Tento fenomén je dáván do souvislosti především s délkou sezony, kdy mají jedinci ve vyšších zeměpisných šířkách méně času na vývoj, a stráví tak i kratší dobu ve stadiu housenky. Rozdíl se pak může projevit ve velikosti a počtu vajíček, množství ejakulátu apod., tedy základních parametrech pro životaschopnost budoucího potomstva. S nižší teplotou se nakonec snižuje také rychlost metabolismu. Opět se tak dostáváme k podobné otázce jako v případě produktivity - jedinec, který získá méně potravy či žije v oblasti s nižší hodnotou produktivity, má také menší či méně intenzivní UV-reflektantní vzor.

Na závěr se nabízí ještě jeden faktor, který může stát za variabilitou UV-reflektantní kresby v rámci křídla, který ovšem není testovatelný v kontextu této práce. Jedná se o vliv typu potravy na výslednou expresi UV-vzoru. Význam tohoto parametru byl potvrzen v například u modráka jehlicového (*Polyommatus ikarus*) (Knüttel et Fiedler, 2000; Knüttel et Fiedler, 2001). V první studii autoři ukazují, že míra intenzity ultrafialového signálu závisí zejména na typu potravy přijímané ve stadiu housenky. Záleží jak na druhu živné rostliny, tak do jisté míry přímo na části rostliny, na niž se housenka

živí. Autoři tyto rozdíly prokázali jak u samců, tak u samic. V další studii pak testují přímo vliv flavonoidů na intenzitu UV-reflektance u samic. Podobně jako v některých případech uvedených v úvodní kapitole rozpoznává samec vhodnou samici na základě UV-reflektantního vzoru na spodní straně křídel. V případě většího množství flavonoidů, které jsou UV-absorpční, byla i reflektance v UV nižší, ale zároveň byla vyšší reflektance ve viditelných částech spektra. Tyto samice pak samci preferovaly. Největší rozdíly mezi jedinci však spočívaly v UV-reflektanci u struktur, které byly ve viditelném světle bílé. Je tedy možné, že také u druhu *Gonpepteryx rhamni* závisí variabilita UV-kresby na obsahu flavonoidů či jiných rostlinných látek v živné rostlině (řešetlák počistný, krušina olšová), v případě východních druhů na jiných poddruzích těchto rostlin. Ovšem spíše než tvar bude tento faktor ovlivňovat pravděpodobně intenzitu UV-reflektance.

6. Závěr

V této práci se mi podařilo prokázat vliv většiny studovaných environmentálních proměnných na variabilitu tvaroprostoru křídla druhu *Gonepteryx rhamni* a uvedených poddruhů. V závislosti na jednotlivých proměnných se mění tvar samotného křídla i UV-reflektantní kresby, která je výrazně variabilnější než obrys křídla. UV-reflektantní kresby jsou poměrně složité struktury, jejichž tvarová proměnlivost bude ovlivněna celou řadou biologických faktorů, přičemž proměnné prostředí jsou jen jedním z nich. Analýza kanonických variát prokázala, že jednotlivé poddruhy, ale také různé vzdálenější populace je možné diskriminovat v závislosti na rozdílech v tvaroprostoru křídla. Tvaroprostor křídla včetně UV-vzoru by tak mohl sloužit k odhalení fylogenetických vztahů jak mezi jednotlivými poddruhy, tak dalšími druhy rodu *Gonepteryx*, které vykazují velmi podobné UV-reflektantní vzory. Například poddruh *G. rhamni amurensis* (na obrázku v druhé části Příloh) má ve většině exemplářů použitých v této práci UV-reflektanci také na druhém páru křídel. Velmi podobný vzor v ultrafialovém světle vykazuje také samostatný druh *Gonepteryx cleopatra*. Pomocí analýzy kanonických variát by bylo v tomto případě možné ověřit, zdali poddruh *G. r. amurensis* není na základě tvaroprostoru prvního páru křídel podobnější druhu *G. cleopatra* než *G. rhamni*.

Primární význam má UV-reflektance zcela jistě v pohlavním výběru, může se však měnit globálně v závislosti na uvedených faktorech. V případě hypotézy ochrany před ultrafialovým zářením se může jednat o pozdější exaptaci původně sekundárního pohlavního znaku pro tento význam. Dalším krokem pro ověření jednotlivých hypotéz je tak chov motýlů v kontrolovaných laboratorních podmínkách a objasnění vlivu jednotlivých nezávislých proměnných na změny tvaru křídla a UV-reflektantní kresby. Dále by bylo možné provést regresní analýzy tvaru na daných nezávislých proměnných na příkladu dalších druhů s ohraničenou UV-reflektantní kresbou. V případě rodu *Gonepteryx* to může být již zmíněný *G. cleopatra* nebo například *G. aspasia*, který má podobně tvarované UV-reflektantní kresby jako *G. rhamni*.

V návaznosti na práci o variabilitě intenzity UV-reflektance u samic druhu a poddruhů *Pieris napi* (Obara, 2008) se nabízí možnost ověřit její výsledky u samic

Gonepteryx rhamni, které mají také na spodní straně křídla UV-reflektantní struktury. Obara navrhuje hypotézu, že v případě *P. napi* postrádal předek UV-reflektantní vzor, jenž se vyvinul až později a stal se důležitým faktorem pro rozpoznávání vhodného sexuálního partnera. Otázkou však zůstává, zda předek UV-reflektanci nikdy neměl, nebo ji ztratil druhotně. Následně pak mohlo dojít například k re-evoluci nebo pouze k projevu fenotypu fixovaného na určité podmínky. Tento jev by mohl být testován pomocí fylogenetického mapování.

V úvodu jsem poznamenal, že UV-reflektance je primárně druhotným pohlavním znakem a v tomto smyslu o ní pojednává naprostá většina vědeckých publikací, které se tímto fenoménem v současnosti zabývají. Tato práce nabízí spolu s několika citovanými studiemi alternativní (evolučně-ekologický) pohled na UV-reflektantní vzory a vytváří prostor pro další studium této problematiky.

7. Literatura

Adams, D. C., Rohlf, F. J., Slice, D. E., 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*. 71: 5-16.

Beldade P., Brakefield, P. M., 2002. The genetics and evo-devo of butterfly wing patterns. *Nature Reviews Genetics*. 3: 442-452.

Blagojevic, M., Milosevic-Zlatanovic, S., 2010. Sexual shape dimorphism in Serbian roe deer. *Mammalian Biology*. 76: 735-740.

Blanckenhorn, W. U., Demont, M., 2004. Bergmann and converse bergmann latitudinal clines in arthropods: Two ends of a continuum? *Integrative and Comparative Biology*. 44: 413-424.

Boelman, N. T., Stieglitz, M., Rueth, H. M., Sommerkorn, M., Griffin, K. L., Shaver, G. R., Gamon, J. A., 2003. Response of NDVI, biomass, and ecosystem gas exchange to long-term warming and fertilization in wet sedge tundra. *Oecologia*. 135: 414-421.

Boogs, C. L., Gilbert, L. E., 1979. Male Contribution to Egg Production in Butterflies: Evidence for Transfer of Nutrients at Mating, *Science*. 206: 83-84.

Bookstein, F. L., 1991. *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press. New York. 435s.

Bookstein, F. L., 1997. Landmark methods for forms without landmarks: Morphometrics of group differences in outline shape. *Medical Image Analysis*. 1: 225-243.

Brakefield, P. M., Larsen T. B., 1984. The evolutionary significance of dry and wet season forms in some tropical butterflies. *Biological Journal of the Linnean Society*. 22: 1-12.

Brakefield, P. M., 1987. Tropical dry and wet season polyphenism in the butterfly *Melanitis leda* (Satyrinae): phenotypic plasticity and climatic correlates. *Biological Journal of the Linnean Society*. 31: 175-191.

Breuker, C. J., Gibbs, M., Merckx, T., Van Dongen, S., Van Dyck, H., 2010. The use of geometric morphometrics in studying butterfly wings in an evolutionary ecological context. **[in]** *Morphometrics for non-morphometricians* (ed. A. M. T. Elewa). Lecture Notes in Earth Sciences 124, Springer-Verlag, Heidelberg. 271-287.

Briscoe, A., Chittka, L., 2001. The evolution of colour vision in insects. *Annual Review of Entomology*. 46: 471-510.

Brunton, C. F., 1998. The evolution of ultraviolet patterns in European *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae): a phylogeny using mitochondrial DNA. *Heredity*. 80: 611-616.

- Brunton, C. F. A., Majerus, M. E. N., 1995. Ultraviolet colours in butterflies: intra- or interspecific communication? *Proceedings of the Royal Society (B)*. 260: 199–204.
- Cavalcanti, M. J., Monteiro, L. R., Lopes, P. R. D., 1999. Landmark-based morphometric analysis in selected species of serranid fishes (Perciformes: Teleostei). *Zoological Studies*. 38: 287-294.
- Campbell, A. L., Naik, R. R., Sowards, L., Stone, M. O., 2002. Biological infrared imaging and sensing. *Micron*. 33: 211–225.
- Campbell, N. A., Atchley, W. R., 1981. The geometry of canonical variate analysis. *Systematic Zoology*. 30: 268–280.
- Cockayne, E. A., 1924. The distribution of fluorescent pigments in Lepidoptera. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*. 72: 1-19.
- Cramer, W., Kicklighter, D. W., Bondeau, A., Moore III, B., Churkina, G., Nemry, B., Ruimy, A., Schloss, A. L. and Intercomparison, T. P. O. T. P. N. M., 1999. Comparing global models of terrestrial net primary productivity (NPP): overview and key results. *Global Change Biology*. 5: 1–15.
- Crane, J., 1954. Spectral reflectance characteristics of butterflies (Lepidoptera) from Trinidad, B. W. I. *Zoologica*. 39: 85-115. [in] Hill, R. J., 1977. Technical note: ultraviolet reflectance- absorbance photography; an easy, inexpensive re- search tool. *Brittonia*. 29: 382-390.
- Darlington, R. B., Weinberg, S., Walberg, H., 1973. Canonical variate analysis and related techniques. *Review of Educational Research*. 43: 433-454.
- DeVoe, R. D., 1975. Ultraviolet and green receptors in principal eyes of jumping spiders. *The Journal of General Physiology*. 66: 193-207.
- DeVoe, R. D., Small, R. J., Zvargulis, J. E., 1969. Spectral sensitivities of wolf spider eyes. *The Journal of General Physiology*. 54: 1–32.
- Diez, M., 1972. Erdkröten können UV-Licht sehen. *Naturwissenschaften*. 59: 316.
- Fischer, K., Karl, I., 2010. Exploring plastic and genetic responses to temperature variation using copper butterflies. *Climate Research*. 43: 17–30.
- Flegr, J., 2005. *Evoluční biologie*. Academia. Praha. 559 s.
- Fleishman, L. J., Loew, E. R., Leal, M., 1993. Ultraviolet vision in lizards. *Nature*. 365: 397.
- Gillespie T., W., Foody, G., M., Rocchini, D., Giorgi, A., P., Saatchi, S., 2008. Measuring and modeling biodiversity from space. *Progress in Physical Geography*. 32: 203-221.

- Hart, N. S., 2001. The visual ecology of avian photoreceptors. *Progress in Retinal and Eye Research*. 20: 675–703.
- Heiling, A. M., Herberstein, M. E., Chittka, L., 2003. Crab spiders manipulate flower signals. *Nature*. 421: 334.
- Heiling, A. M., Herberstein, M. E., 2004. Predator-prey coevolution: Australian native bees avoid their spider predators. *Proceedings of the Royal Society of Biological Sciences (B)*. 271: 196-198.
- Heiling, A. M., Chittka, L., Cheng, K., Herberstein, M. E., 2005. Colouration in crab spiders: substrate choice and prey attraction. *Journal of Experimental Biology*. 208: 1785–1792.
- Herman, J. R., Krotkov, N., Celarier, E., Larko, D., Labow, G., 1999. Distribution of UV radiation at the Earth's surface from TOMS-measured UV-backscattered radiances. *Journal of Geophysical Research*. 104: 12,059–12,076.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., Jarvis, A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965-1978.
- Hunt, S, Cuthill, I. C., Bennett, A. T. D., Church, S. C., Partridge, J. C., 2001. Is the ultraviolet waveband a special communication channel in avian mate choice? *Journal of Experimental Biology*. 204: 2499–2507.
- Huth, H., H., Burkhardt, D., 1972. Der spektrale Sehbereich eines Violetta Kolibris. *Naturwissenschaften*. 59: 650.
- Church, S. C., Bennett, A. T. D., Cuthill, I. C., Hunt, S., Hart, N. S., Partridge, J. C., 1998a. Does Lepidopteran larval crypsis extend into the ultraviolet? *Naturwissenschaften*. 85: 189–192.
- Church, S. C., Bennett, A. T. D., Cuthill, I. C. and Partridge, J. P., 1998b. Ultraviolet cues affect the foraging behaviour of bluetits. *Proceedings of the Royal Society (B)* 265: 1509–1514.
- Jacobs, G. H., Neitz, J., Deegan, J. F. II, 1991. Retinal receptors in rodents maximally sensitive to ultraviolet light. *Nature*. 353: 655–656.
- Jong, M. A. de, Kesbeke, F. M. N. H., Brakefield, P. M., Zwaan, B. J., 2010. Geographic variation in thermal plasticity of life history and wing pattern in *Bicyclus anynana*. *Climate Research*. 43: 91–102.
- Kaliontzopoulou, A., Carretero, M. A., Llorente, G. A., 2007. Multivariate and geometric morphometrics in the analysis of sexual dimorphism variation in *Podarcis* lizards. *Journal of Morphology*. 268: 152-165.

- Kemp, D. J., 2006. Heightened phenotypic variation and age-based fading of ultraviolet butterfly wing coloration. *Evolutionary Ecology Research*. 8: 515–527.
- Kemp, D. J., 2007. Female butterflies prefer males bearing bright iridescent ornamentation. *Proceedings of the Royal Society (B)*. 274: 1043–1047.
- Kemp, D. J., Rutowski, R. L., 2007. Condition dependence, quantitative genetics, and the potential signal content of iridescent ultraviolet butterfly coloration. *Evolution*. 61: 168–183.
- Kemp, D. J., Macedonia, J. M., Ball, T. S., Rutowski, R. L., 2008. The potential direct fitness consequences of ornament-based mate choice in a butterfly. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 62: 1017–1026.
- Kendall, D., 1984. Shape manifolds, Procrustean metrics and complex projective spaces. *Bulletin of the London Mathematical Society*. 16: 81–121.
- Kerschbaumer, M., Sturmbauer, C., 2011. The utility of geometric morphometrics to elucidate pathways of cichlid fish evolution. *International Journal of Evolutionary Biology*. 2011: 290245.
- Klingenberg, C. P., 2002. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. *Gene*. 287: 3–10.
- Klingenberg, C. P., Monteiro, L. R., 2005. Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. *Systematic Biology*. 54: 678–688.
- Klingenberg, C. P., 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*. 11: 353–357.
- Koivula, M., Viitala, J., 1999. Rough-legged Buzzards use vole scent marks to assess hunting areas. *Journal of Avian Biology*. 30: 329–332.
- Komárek, S., 2004. *Mimikry, aposematismus a příbuzné jevy*. Dokořán. Praha. 192 s.
- Knüttel, H., Fiedler, K., 2000. On the use of UV wing patterns in butterfly morphology and systematics. *Journal of the Lepidopterists Society*. 54: 137–144.
- Knüttel, H., Fiedler, K., 2000. Host-plant-derived variation in ultraviolet wing patterns influences mate selection by male butterflies. *The Journal of Experimental Biology*. 204: 2447–2459.
- Land, M. F., Horwood, J., Lim, M. L., Li, D., 2007. Optics of the ultraviolet reflecting scales of a jumping spider. *Proceedings of the Royal Society (B)*. 274: 1583–1589.

- Lim, M. L. M., Li, D., 2006a. Extreme ultraviolet sexual dimorphism in jumping spiders (Araneae: Salticidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 89: 397–406.
- Lim, M. L. M., Li, D., 2006b. Behavioural evidence of UV sensitivity in jumping spiders (Araneae: Salticidae). *The Journal of Comparative Physiology (A)*. 192: 871–878.
- Lim, M. L. M., Land, M. F., Li, D. 2007. Sex-specific UV and fluorescence function as courtship signals in dumping spiders. *Science*. 315: 481.
- Losey, G. S., Cronin, T. W., Goldsmith, T. H., Hyde, D., Marshall, N. J., McFarland, W. N., 1999. The UV visual world of fishes: a review. *Journal of Fish Biology*. 54: 921–943.
- Lubbock, J., 1882a. *Ants, Bees and Wasps: A Record of Observations on the Habits of the Social Hymenoptera*. D. Appleton & Co. New York. 448 s.
- Lubbock, J., 1882. On the Sense of Color among Some of the Lower Animals. Part. I. *Journal of the Linnean Society (Zool.)*. 16: 121-127.
- Lutz, F. E., 1924. Apparently non selective characters and combinations of characters, including a study of ultraviolet in relation to the flower-visiting habits of insects. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 29: 181-283.
- Lutz, F. E., 1933a. Experiments with "stingless bees" (*Trigona cressoni parastigma*) concerning their ability to distinguish ultraviolet patterns. *American Museum novitates*. 641: 1- 26.
- Lutz, F. E., 1933b. "Invisible" colors of flowers and butterflies. *Natural History*. 33: 565–567.
- Lutz, F. E., 1934. The "buckwheat problem" and the behavior of the honey-bee. *American Museum novitates*. 688: 1-10.
- Lutz, F. E., Richtmyer, F. K., 1922. The Reaction of *Drosophila* to Ultraviolet. *Science*. 55: 519.
- Lythgoe, J. N., 1979. *The Ecology of Vision*. Oxford: Oxford University Press. [in] Hunt, S, Cuthill, I. C., Bennett, A. T. D., Church, S. C., Partridge, J. C., 2001. Is the ultraviolet waveband a special communication channel in avian mate choice? *Journal of Experimental Biology*. 204: 2499–2507.
- Lyytinen, A., Brakefield, P. M., Mappes, J., 2003. Significance of butterfly eyespots as an antipredator device in ground-based and aerial attacks. *Oikos*. 100: 373–379.
- Lyytinen, A., Lindstrom, L., Mappes, J., 2004. Ultraviolet reflection and predation risk in diurnal and nocturnal Lepidoptera. *Behavioral Ecology*. 15: 982–987.
- Macholán, M., 1999. Prokrustes, deformace a nová morfometrie. *Vesmír*. 78: 35-39.

Mantini, S., Ripani, M., 2009. Modern morphometry: new perspectives in physical anthropology. *N Biotechnol.* 25: 325-30.

Marcus L. F., 1990. Traditional morphometrics. [in] Rohlf, F. J., Bookstein, F. L., (eds). *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop. Special Publication, Number 2.* University of Michigan Museum of Zoology. Ann Arbor. Michigan. 77-122.

Meyer-Rochow V., B., Järvillehto, M., 1997. Ultraviolet colours in *Pieris napi* from Northern and Southern Finland: Arctic females are the brightest!. *Naturwissenschaften.* 84: 165–168.

Mazokhin-Porshnyakov, G. A., 1957. Reflecting properties of butterfly wings and role of ultraviolet rays in the vision of insects. (translation). *Biophysics.* 2: 352-362. [in] Meyer-Rochow, V. B., 1991. Differences in ultraviolet wing patterns in the New Zealand lycaenid butterflies *Lycaena salustius*, *L. rauparaha* and *L. feredayi* as a likely isolating mechanism. *Journal of the Royal Society of New Zealand.* 21: 169–177.

Mitteroecker, P., Gunz, P., Bernhard, M., Schaefer, K., Bookstein, F., 2004. Comparison of cranial ontogenetic trajectories among great apes and humans. *Journal of Human Evolution.* 46: 679–697.

Mitteroecker, P., Gunz, P., 2009. Advances in geometric morphometrics. *Evolutionary Biology.* 36: 235-247.

Mitteroecker, P., Bookstein, F. L., 2011. Linear discrimination, ordination, and the visualization of selection gradients in modern morphometrics. *Evolutionary Biology.* 38: 100-114.

Monteiro, L. R., 1999. Multivariate regression models and geometric morphometrics: The search for causal factors in the analysis of shape. *Systematic Biology.* 48: 192–199.

Mousseau, T. A., 1997. Ectotherms follow the converse to Bergmann's rule. *Evolution.* 51: 630–632.

Nekrutenko, Y. P., 1965. Three cases of gynandromorphism in *Gonepteryx*. *Journal of Research on the Lepidoptera.* 4: 103-108.

Neustupa, J., 2005. Phenotypic plasticity of microalgal cultures in culture collections: a geometric morphometric approach. *Oceanological and Hydrobiological Studies.* 34: 97-107.

Neustupa, J., 2006. Co je to geometrická morfometrika. *Živa.* 54: 54-56.

Neustupa, J., Černá, K., Šťastný, J., 2009. Diversity and morphological disparity of desmid assemblages in Central European peatlands. *Hydrobiologia.* 630: 243–256.

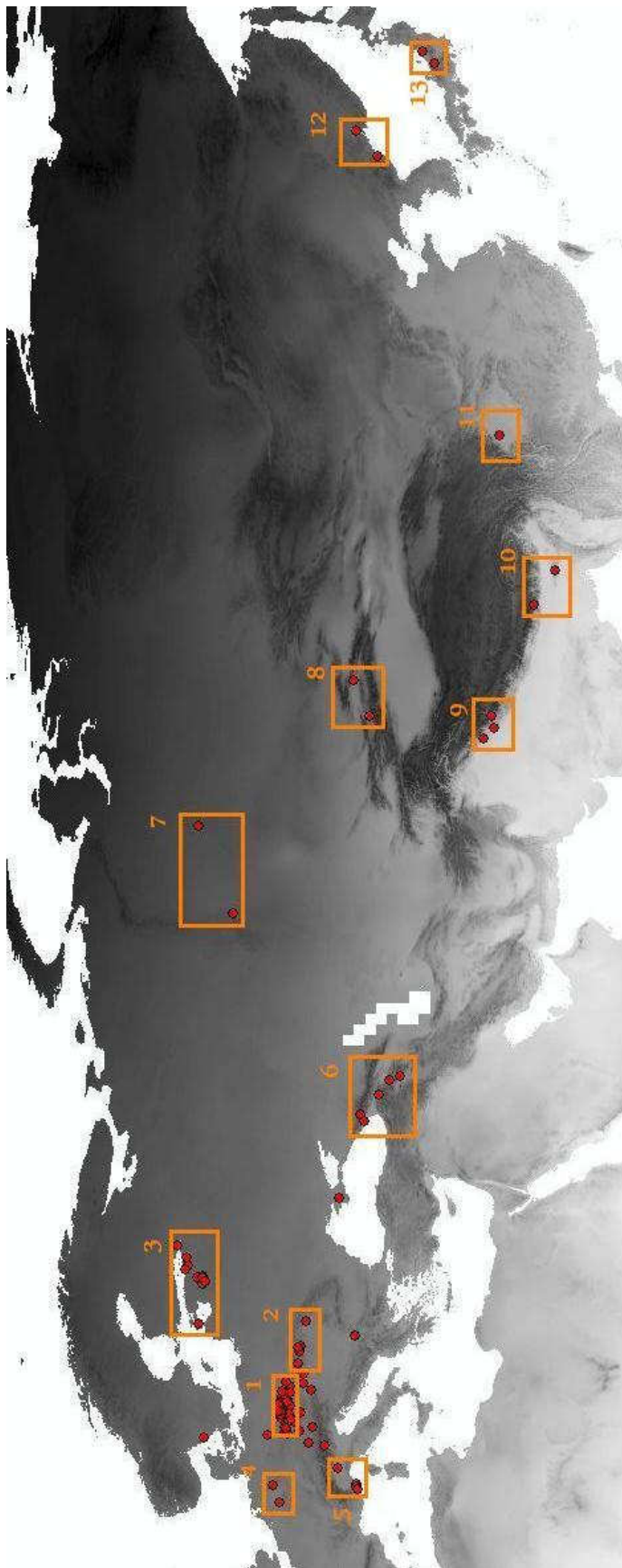
- Niet, T. van der, Zollikofer, Ch. P. E., León, M. S. P. de, Johnson, S. D., Linder, H. P., 2010. Three-dimensional geometric morphometrics for studying floral shape variation. *Trends in Plant Science*. 15: 423-426.
- Obara, Y., 1970. Studies on the mating behavior of the white cabbage butterfly, *Pieris rapae crucivora* Boisduval III. Near-ultraviolet reflection as the signal of intraspecific communication. *Zeitschrift fur Vergleichende Physiologie*. 69: 99–116.
- Obara, Y., Majerus, M. E. N., 2000. Initial mate recognition in the British cabbage butterfly, *Pieris rapae rapae*. *Zoological Science*. 17: 725–730.
- Obara, Y., Ozawa, G., Fukano, Y., 2008. Geographic variation in female UV reflectance in the cabbage butterfly. *Zoological Science*. 25: 1106–1110.
- Olofsson, M., Vallin, A., Jakobsson, S., Wiklund, C., 2010. Marginal Eyespots on Butterfly Wings Deflect Bird Attacks Under Low Light Intensities with UV Wavelengths. *PLoS ONE*. 5: e10798.
- Palmer, M., Pons, G. X., Linde, M., 2004. Discriminating between geographical groups of a Mediterranean commercial clam (*Chamelea gallina* (L.): Veneridae) by shape analysis. *Fisheries Research*. 67: 93–98.
- Pecháček P., Stella D., Kleisner K., 2012. Ultrafialový svět bezobratlých. *Živa*. 60: 25-28.
- Perry, R. J., McNaughton, P. A., 1991. Response properties of cones from the retina of the tiger salamander. *Journal of Physiology*. 433: 561-87.
- Pope, R. D., Hinton, H. E., 1977. A preliminary survey of ultraviolet reflectance in beetles. *Biological Journal of the Linnean Society*. 9: 331-348.
- Pumphrey, R. J., 1959. The Forgotten Man: Sir John Lubbock, F. R. S., Notes and Records of the Royal Society of London. 13: 49-58.
- Rajchard, J., 2009. Ultraviolet (UV) light perception by birds: a review. *Veterinarni Medicina*. 54: 351–359.
- Rohlf, F. J., 1990. Rotational fit (Procrustes) methods. [in] *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop* (ed. F. J. Rohlf and F. L. Bookstein). University of Michigan Museum of Zoology. Michigan. 227–236.
- Rohlf F. J., 1993. Relative warp analysis and an example of its application to mosquito wings. [in] *Contributions to morphometrics*. Museo Nacional de Ciencias Naturales. Madrid. 134-159.
- Rohlf, F. J., 2008. TpsDig (version 2.12). Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

- Rohlf, F. J., 2010. TpsUtil (version 1.46). Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F. J., 2010. TpsRelw (version 1.49). Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F. J., 2011. TpsRegr (version 1.38). Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F. J., Marcus, L. F., 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*. 8: 129-132.
- Rohlf, F. J., Slice, D., 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superposition of landmarks. *Systematic Zoology*. 39: 40–59.
- Rosas, A., Bastir, M., 2002. Thin-plate spline analysis of allometry and sexual dimorphism in the human craniofacial complex. *American Journal of Physical Anthropology*. 117: 236-245.
- Rutowski, R. L., Gilchrist, G. W., 1986. Copulation in *Colias eurytheme* (Lepidoptera: Pieridae): patterns and frequency. *Journal of Zoology*. 209: 115–124.
- Rutowski, R. L., Gilchrist, G. W., Terkanian, B., 1987. Female butterflies mated with recently mated males show reduced reproductive output. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 20: 319–322.
- Silberglied, R. E., Taylor, O. R. Jr, 1978. Ultraviolet reflection and its behavioral role in the courtship of the sulphur butterflies *Colias eurytheme* and *C. philodice* (Lepidoptera, Pieridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 3: 203–243.
- Silberglied, R. E., 1979. Communication in the ultraviolet. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 10: 373-398.
- Siitari, H., Honkavaara, J., Viitala, J., 1999. Ultraviolet reflectance of berries attracts foraging birds. A laboratory study with redwings (*Turdus iliacus*) and bilberries (*Vaccinium myrtillus*). *Proceedings of the Royal Society (B)*. 266: 2125–2129.
- Slice, D. E., 2001. Landmark coordinates aligned by Procrustes analysis do not lie in Kendall's shape space. *Systematic Biology*. 50: 141–149.
- Slice, D. E., 2005. Modern Morphometrics. **[in]** Modern morphometrics in physical anthropology (ed. D. E. Slice). Kluwer Press. New York. 1–45
- SPSS, Inc., 2009 (version, 18.0.0). Chicago, IL. www.spss.com.
- Stevens, M., 2005. The role of eyespots as anti-predator mechanisms, principally demonstrated in the Lepidoptera. *Biological Reviews*. 80: 573–588.

- Stevens, S., Cuthill, I. C., 2007. Hidden Messages: Are Ultraviolet Signals a Special Channel in Avian Communication?. *BioScience*. 57: 501 - 507.
- Stoehr, A. M., McGraw, K. J., 2001. Ultraviolet reflectance of color patches in male *Sceloporus undulatus* and *Anolis carolinensis*. *Journal of Herpetology*. 35: 168-171.
- Stone, J. R., 1998. Landmark-based thin-plate spline relative warp analysis of gastropod shells. *Systematic Biology*, 47: 254–263.
- Takanashi, T., Hiroki, M., Obara, Y., 2001. Evidence for male and female sex pheromones in the sulfur butterfly, *Eurema hecabe*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 101: 89-92.
- Thompson, D. A. W., 1917. *On Growth and Form*. Cambridge University Press. Cambridge. 793 s.
- Tovee, M. J., 1995. Ultra-violet photoreceptors in the animal kingdom: their distribution and function. *Trends in Ecology & Evolution*. 10: 455–459.
- Tso, I. M., Lin, C. W., Yang, E. C., 2004. Colourful orb-weaving spiders, *Nephila pilipes*, through a bee's eyes. *Journal of Experimental Biology*. 207: 2631-2637.
- Vane-Wright, R. I., Boppré, M., 1993. Visual and chemical signalling in butterflies: functional and phylogenetic perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London (B)*. 340: 197–205.
- Vorobyev, M., Osorio, D., Bennett, A. T. D., Marshall, N. J., Cuthill, I. C., 1998. Tetrachromacy, oil droplets and bird plumage colours. *Journal of Comparative Physiology (A)*. 183: 621–633.
- Winter, Y., López, J., Von Helversen, O., 2003. Ultraviolet vision in a bat. *Nature*. 425: 612-614.
- Wright, A. A., 1972. The influence of ultraviolet radiation on the pigeon's color discrimination. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*. 17:325–337.
- Zahavi, A., 1975. Mate selection a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*. 53: 205-214.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D., Fink, W. L., 2004. *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Elsevier Academic Press. San Diego. 443 s.

8. Přílohy

1. Rozdělení samců do skupin podle lokality původu – CVA – komplet - 13 skupin



V této první části příloh uvádím výstupy metody CVA při rozdělení většiny samců do třinácti skupin, určených podle lokality původu. Pomocí této metody se pokusím objasnit, zda existuje signifikantní rozdíl v tvaru křídla v předem určených skupinách (další dílčí analýzy jsou uvedeny v rámci výsledků práce).

Na následující straně jsou uvedeny hodnoty prokrustovských vzdáleností mezi skupinami a výsledné hodnoty permutačního testu (10 000 permutací). Analýza jsem provedl pomocí programu MorphoJ (Klinhenberg, 2011).

Obr. P1. Geografické rozdělení porovnávaných skupin. Do třinácti srovnávaných skupin bylo zahrnuto celkem 109 samců (ze 118 celkových). V případě, že jedinci pochází z jedné lokality, je na mapě pouze jeden bod. Počty jedinců v každé lokalitě jsou uvedeny na následující straně (tab. P1).

CVA_groups_počty exemplářů ve vybraných skupinách dle lokality												
A_gr. 1	B_gr. 2	C_gr. 3	D_gr. 4	E_gr. 5	F_gr. 6	G_gr. 7	H_gr. 8	I_gr. 9	J_gr. 10	K_gr. 11	L_gr. 12	M_gr. 13
59	6	13	3	3	5	2	2	4	3	4	3	2

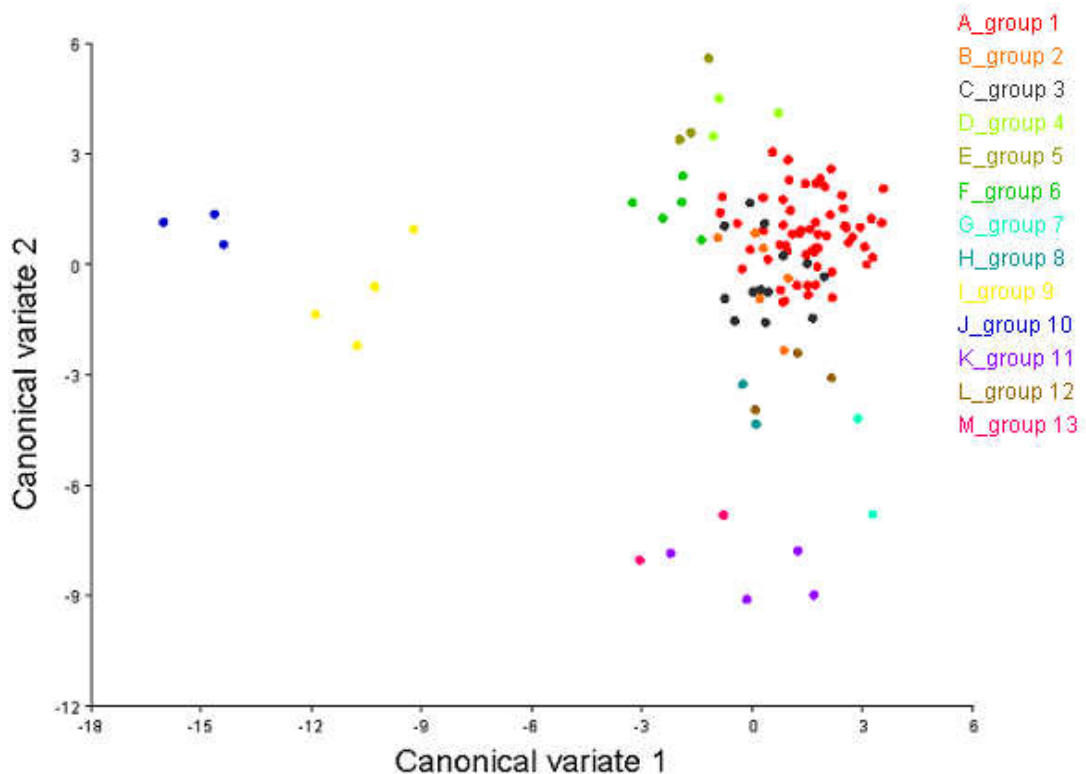
Tab. P1. Rozložení počtu jedinců v jednotlivých skupinách.

CVA: prokrustovské vzdálenosti mezi skupinami												
	A_g. 1	B_g. 2	C_g. 3	D_g. 4	E_g. 5	F_g. 6	G_g. 7	H_g. 8	I_g. 9	J_g. 10	K_g. 11	L_g. 12
B_group 2	0,0136											
C_group 3	0,0230	0,0198										
D_group 4	0,0315	0,0244	0,0213									
E_group 5	0,0260	0,0259	0,0323	0,0382								
F_group 6	0,0581	0,0616	0,0696	0,0732	0,0599							
G_group 7	0,0567	0,0535	0,0497	0,0552	0,0610	0,0916						
H_group 8	0,0601	0,0550	0,0491	0,0497	0,0641	0,1066	0,0435					
I_group 9	0,0724	0,0738	0,0838	0,0803	0,0773	0,0527	0,1093	0,1158				
J_group 10	0,0800	0,0805	0,0903	0,0847	0,0834	0,0612	0,1165	0,1196	0,0210			
K_group 11	0,0540	0,0592	0,0692	0,0771	0,0566	0,0358	0,0843	0,0993	0,0630	0,0736		
L_group 12	0,0280	0,0291	0,0331	0,0388	0,0298	0,0518	0,0597	0,0672	0,0737	0,0813	0,0500	
M_group 13	0,0372	0,0424	0,0513	0,0569	0,0495	0,0423	0,0748	0,0850	0,0482	0,0594	0,0355	0,0427

Tab. P2. CVA. Hodnoty prokrustovské vzdálenosti mezi analyzovanými skupinami.

CVA: p-hodnoty permutačního testu (10 000 permutací) pro prokrustovské vzdálenosti												
	A_g. 1	B_g. 2	C_g. 3	D_g. 4	E_g. 5	F_g. 6	G_g. 7	H_g. 8	I_g. 9	J_g. 10	K_g. 11	L_g. 12
B_group 2	0,8783											
C_group 3	0,0339	0,6411										
D_group 4	0,2185	0,7585	0,8730									
E_group 5	0,4626	0,6616	0,3363	0,0240								
F_group 6	<.0001	0,0041	0,0016	0,0339	0,0549							
G_group 7	0,0131	0,0325	0,1120	0,0978	<.0001	0,0279						
H_group 8	0,0110	0,0503	0,2176	0,1958	0,0668	0,0328	1					
I_group 9	<.0001	0,0039	0,0002	0,0278	0,0221	0,0092	0,0683	0,0351				
J_group 10	<.0001	0,0048	0,0034	<.0001	0,0126	0,0202	0,0315	0,0646	0,8109			
K_group 11	0,0062	0,1466	0,0192	0,2224	0,3378	0,6891	0,2754	0,1836	0,1692	0,2460		
L_group 12	0,4021	0,7829	0,4556	0,6726	0,9252	0,3157	0,3663	0,3024	0,0298	0,2622	0,5030	
M_group 13	0,2632	0,2170	0,0959	0,1996	0,1651	0,4885	0,3270	0,3362	0,1967	0,3654	0,8985	0,8004

Tab. P3. CVA. Výsledné p-hodnoty permutačního testu (10 000 permutací) prokrustovské vzdálenosti mezi skupinami. Zeleně jsou označeny signifikantní hodnoty.



Obr. P2. CVA. Grafické znárodnění rozdělení všech třinácti studovaných skupin.

Analýzu kanonických variát jsem uvedl až jako přílohu z důvodu uvedených v předchozím textu. Dalším problémem je fakt, že v případě skupin z území Asie nastal v několika skupinách případ, kdy na jednom území byly dva různé poddruhy, jejichž tvarové rozdíly byly signifikantní již v předchozích analýzách. Poddruhově heterogenní byly skupiny 11-13, jež navíc obsahovaly velmi malý počet sledovaných jedinců. Výsledné hodnoty těchto skupin pak nejsou téměř v žádném případě signifikantní, ani od nejbližších lokalit. Za pozornost stojí výrazná distance skupin 9 a 10. Obě skupiny totiž náleží poddruhu *G. rhamni nepalensis*, který i v tomto testu prokazuje výraznou tvarovou odlišnost od většiny ostatních skupin. Výsledné hodnoty tak nebyly výrazným překvapením a spíše potvrdily předpoklady. Za nejvýznamnější považuji výsledek, který odhaluje signifikantní odlišnost mezi skupinami 4 a 5, jež pocházejí ze západní Evropy a jejichž lokality jsou vzhledem k celému souboru velmi blízké (ovšem při srovnání pouze těchto 6 jedinců je výsledek permutačního testu pod hranicí signifikance – pravděpodobně příliš malý vzorek).

2. Ukázky a srovnání jednotlivých poddruhů – zařazení do oblastí z obrázku P1



Obr. P3.
Gonepteryx rhamni

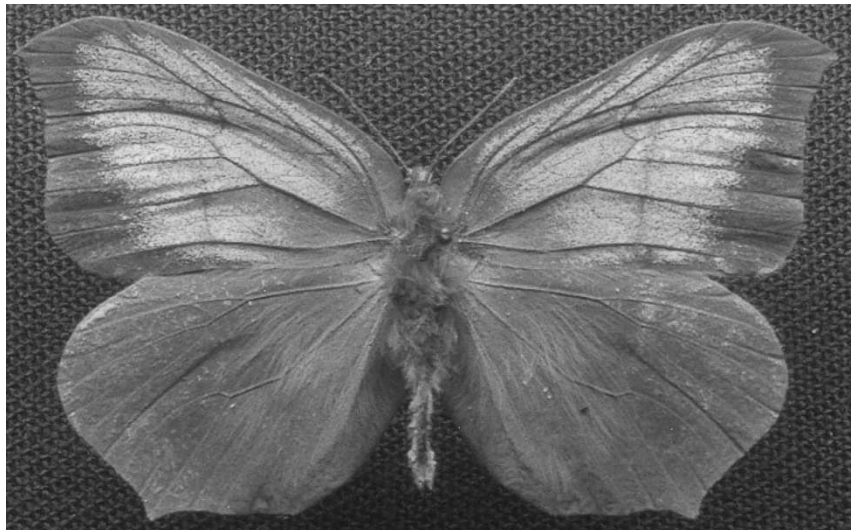
Oblast: 1 (ČR)

Pozn: Jako *G. rhamni*
určeno celkem 101
exemplářů. Kresba
velmi variabilní.

Obrázek P4.
G. rhamni tianschanica

Oblast: 8
(Kyrgyzstán/Čína)

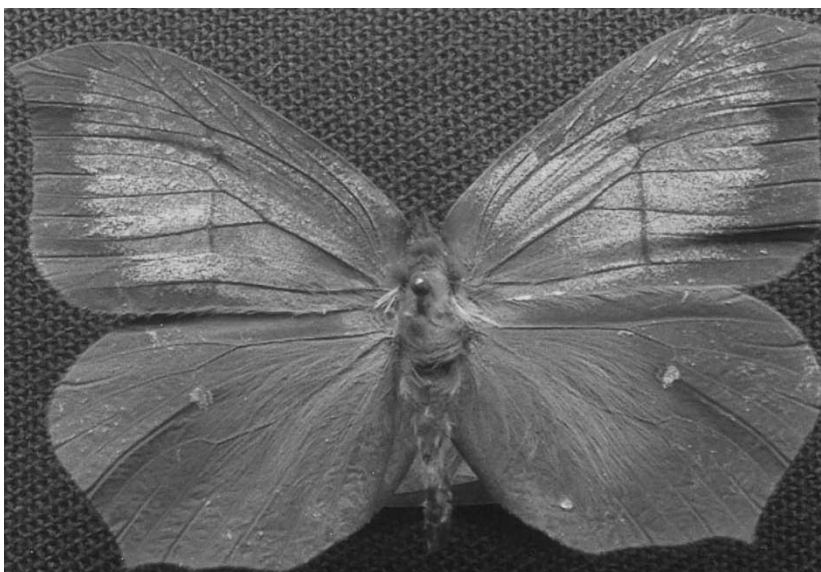
Pozn: v celém souboru
je jako tento poddruh
popsaný pouze jeden
exemplář

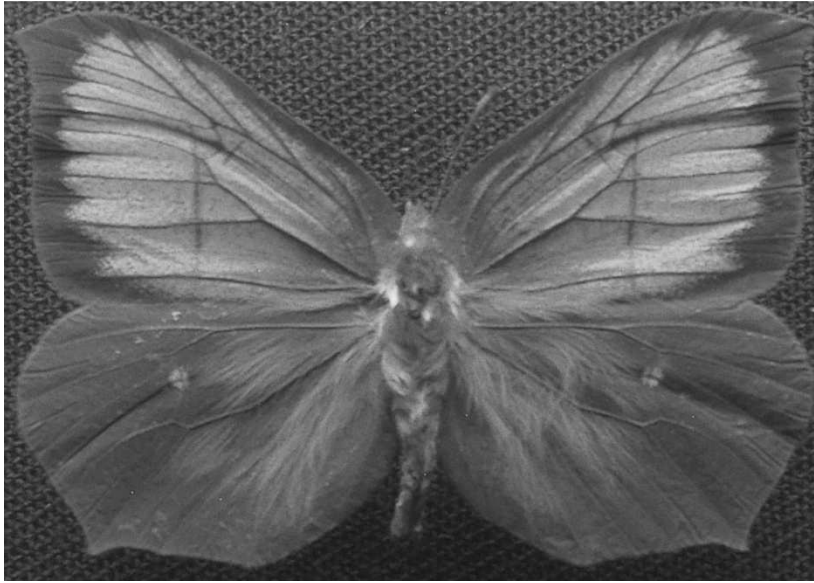


Obrázek P5.
G. rhamni maxima

Oblast: 13 (Japonsko)

Pozn: v celém souboru
je jako tento poddruh
popsán pouze jediný
exemplář





Obrázek P6.
G. rhamni major

Oblast: 11
(Sečuán – Čína)

Pozn: V souboru celkem 3 exempláře. Velmi variabilní kresba. Zbylé dva ze Severní Koreje (oblast 12).

Obr. P7.
G. rhamni amurensis

Oblast: 11
(Sečuán – Čína)

Pozn: Celkem 5 exempl. Reflektance na spodních křídlech, u jednoho chybí. Rozl. v oblastech 11-13. Ve viditelném světle velmi podobný jako ostatní (mírně větší)



Obr. P8.
G. rhamni nepalensis

Oblast: 10 (Indie)

Pozn: V datasouboru celkem 7 exemplářů poddruhu nepalensis. Rozloženy v oblastech 9 (4) a 10 (3).