

Posudek na diplomovou práci Bc. Veroniky Baranové „UV ZNAKY V SFARBENÍ GEKONČÍKA NOČNÍHO (EUBLEPHARIS MACULARIUS)“

Vypracoval: RNDr. Petr Veselý, Ph.D

Předložená diplomová práce popisuje zbarvení gekončíka nočního s ohledem na přítomnost prvků odrážejících i UV část záření. Práce sleduje, jak se toto zbarvení liší mezi pohlavími, v průběhu ontogeneze, v době a mimo dobu rozmnožování a mezi přírodními a laboratorními populacemi a snaží se navrhnout biologickou funkci UV znaků u tohoto nočního ještěra. Jedná se o pilotní studii ukazující, kam by mohl další soustavný výzkum směřovat a z mého pohledu jde o práci nesmírně zajímavou, doplňující významně naše znalosti o sensorické ekologii plazů.

Práce je standardně členěna, psána na 40 stranách, podložena 90 literárními zdroji. Kromě toho práce zahrnuje 15 stran příloh. Práce je psána ve slovenštině, a protože jsem už relativně mladý ročník (bylo mi 11 let, když se Československo rozpadlo) netroufám si zhodnotit množství typografických a mluvnických chyb v textu. Nicméně český a anglický abstrakt by určitě profitoval z přečtení roditelým mluvčím.

Co se týče používání a formátování referencí a úpravy textu, tabulek a obrázků, není míra chyb vyšší, než bývá zvykem u diplomových prací.

Zde jsou mé připomínky výtky a návrhy na vylepšení jednotlivých částí textu. Během obhajoby prosím autorku, aby reagovala pouze na ty psané kurzívou.

Úvod

Práce začíná jednostránkovým úvodem, seznamujícím čtenáře s problematikou vnímání a odrážení UV záření a částečně i s cíly této práce.

Na závěr úvodu studentka předpokládá, že pokud je vnímání UV části spektra prokázáno u rodů Gekko, Hemidactylus a Teratoscincus, je jeho přítomnost pravděpodobná i u gekončíka nočního. Ví se něco o mezitaxonové stabilitě této schopnosti u plazů, např. u těch ještěrek? Není běžné, že některé skupiny/druhy tuto schopnost snadno ztrácí? Např. u pěvců tomu tak je.

Literární přehled

Literární přehled je plný popisů živočišných taxonů, které jsou zmíněny latinsky a zpravidla uvedené slovem druh nebo skupina (např. druhy skupiny Meliponini, skupina Amphibia). Věta pak působí dojmem, že autorka tak úplně neví o jaký taxon se jedná. Doporučoval bych použít i slovenské označení např. včely tribu Meliponini.

Str.13 – navrhla by autorka možné vysvětlení, proč se u ještěrek rodu Gallotia liší ornamentálnost UV reflektujících ploch na různých stranách ostrova Tenerife. Obývají tyto dvě populace jiný habitat, nebo mikrohabitat, nebo mají nějaké odlišnosti v chování (cirkadiálních rytmech či rozmnožování).

Není úplně zřejmé, proč je do literárního přehledu zařazena kapitola o fluorescenci. Ani v cílech práce se nepředpokládá, že by studentka fluorescenci zkoumala. To, že se u gekončíka objevuje, je vlastně jakýsi vedlejší, i když nesmírně zajímavý, produkt práce. Chtělo by to mít prokázání fluorescence jako jeden z cílů, a v literárním přehledu zdůraznit, zda její přítomnost u gekončíka lze očekávat.

Kapitola 2.2.2 „Význam UV znaků v sfarbení gekončíka nočního“ je většinou naplněná popisem toho, jak se mění složení dopadajícího světla v průběhu soumraku, což nenaplní tak docela titulky. Je zde tedy dokázáno, že UV odrazivost může mít význam i pro soumrakovo-nočního živočicha. To jsme ale už v průběhu literárního přehledu slyšeli několikrát. Zde bych raději slyšel něco o životě gekončíka a hypotézy v jakých situacích by se mu UV reflektance mohla vyplatit.

Literární přehled je zakončen kapitolkou Cíle, nicméně mám pocit, že by cíle bylo možné popsat detailněji, včetně navržených hypotéz a očekávaných výsledků (rozdíly mezi pohlavími, v průběhu ontogeneze, mezi divokými a laboratorními zvířaty, mimo a v době rozmnožování).

Materiál a metodika

Zmínil bych jméno gekončíka (s latinským názvem) v první kapitole, ne až u materiálu.

V kapitole materiál není zřejmé, zda jedinci během a mimo reprodukční období jsou titíž, dozvíme se to až v kapitole následující a zde by stálo za to zmínit, proč se jejich počty liší (např. kolik bylo úmrtí). Dále bych zde uvítal informaci, jak bylo reprodukční a nereprodukční období časově vymezeno. Až ve výsledcích se těmto obdobím začíná říkat jaro a zima.

Možná bych zařadil tabulku, která by shrnovala použitý materiál. V textu se píše, že bylo celkem pořízeno 1148 fotografií v denním světle a 1148 v UV světle, mě ale pro 195 jarních měření, 191 zimních, 279 juvenilů a 483 juvenilních hlav vychází celkem 1158. Kromě toho se dále dočteme, že pro analýzu v software Barvocuc se použilo fotografií 472. Chápu, že zde nejsou zahrnuty fotografie hlav, ale i tak mi počty dost nesedí. Poprosil bych o objasnění.

Zdůraznil bych zde, že část zvířat (kolik) pocházela přímo z přírody, zatímco část byla druhá, v zajetí odchovaná generace, a že tato proměnná (Pakistán vs. laboratoř) je zahrnuta jako vysvětlující do analýz zbarvení. První zmínka o této analýze je až v první kapitole výsledků a to čtenáře dost překvapí.

Jak dlouho přibližně trvala výměna filtrů na objektivu fotoaparátu? Autorka píše, že na snímcích s oběma filtry se v ideálním případě zvíře nepohnulo, znamená to, že pokud se pohnulo, proběhlo fotografování znovu, nebo se s tím umí použitý software vyrovnat?

Zdůraznil bych, že pouze polovina fotografií byla pořízena pod nasvícením speciální žárovkou a polovina pod denním světlem. Zároveň bych upřesnil, že při jednom sezení bylo každé zvíře vyfotografováno devětkrát (pokud to správně chápu) – třikrát pod denním světlem (vybral se nejlepší snímek), třikrát pod UV světlem s filtrem propouštějícím celé viditelné spektrum a třikrát pod UV světlem s filtrem propouštějícím pouze UV záření. Je to tak správně?

Oceňuji, jak podrobně autorka popisuje postup práce v software ImageJ. Pouze si nejsem jist, jak případná měření ovlivňuje fakt, že při počáteční úpravě fotografií je soubor převeden z 16-ti bitového RAW do 32-ti bitové multispektrální fotografie (v jakém formátu?). Nemění se při této transformaci množství dostupných informací ve fotografii?

Nejsem si úplně jist, jak probíhal výběr ploch, na nichž byla měřena reflektance (černá, bílá, šedá). Autorka píše, že šedá byla zvolena relativně k bílé a bílá byla nejsvětlejší část ocasu. Byla tedy šedá např. vždy o 50 % méně reflektující než bílá (a tedy o 50 % více reflektující než černá)? Obr. 24 v přílohách naznačuje, že tomu takhle právě nebylo, takže jaký byl ten klíč?

Plochy na měření UV reflektance byly vybrány na ocase s odůvodněním, že na zbytku těla se reflektující oblasti prakticky nevyskytují, ale z fotografií v příloze je zjevné, že i na těle jsou pruhy, které by odpovídali svou UV reflektancí ocasu. Nezkoušeli jste je také měřit? Něco naznačuje letmá zmínka v první kapitole výsledků, citují: „V žltej farbe sme nenamerali žiadnu reflektanciu v UV spektre.“ Jaká měření tedy byla vlastně provedena?

Při popisu analýzy fotografií v software Barvocuc by nezasvěcenému čtenáři pomohlo být v některých místech konkrétnější. Např. popis které barvy byly přiřazeny kterým úhlům odstínu (hue) by bylo pěkné graficky znázornit na koláčovém grafu, hlavně v hodnotách přesahujících 360° je obtížné pochopit rozsah jednotlivých barev. Také čtenáři chvíli trvá pochopit, že u odstínů šedé se bavíme o hodnotách světlosti (lightness), což je samozřejmě logické, ale nebyl bych na čtenáře příliš náročný 😊.

Jestli to dobře chápu, rozsahy jednotlivých odstínů jsou definované variabilitou přítomných barev na všech pořízených fotografiích a to způsobuje drobné odchylky v definování barevných odstínů na fotografiích adultů a juvenilů (především zelená zabírá u juvenilů o 30° více). Má tato odchylka nějaký biologický důvod (nemůže to např. být způsobeno namodralým odstínem očních víček u juvenilů)?

Na obrázku 7C je znázorněno, jak byly měřeny hrany v rámci vzoru gekončika. Na zobrazené fotografii nicméně není úplně zřejmé, že software vůbec nějaké hrany rozpoznal. Čekal bych, že u tak strakatého zvířete jako je gekončík noční budou právě hrany velmi výrazné. Jak to tedy bylo?

Co se popisu použitých statistických analýz týče, myslím, že by autorka mohla být mnohem sdílnější. Určitě bych zde zmínil, které všechny proměnné vstupovaly do ordinačních analýz, a ve výsledcích bych ukázal, jak jsou tedy korelovány a jak odpovídají zobrazovaným ordinačním osám. Ve výsledcích z PCA grafu nic nevidíme, autorka pouze ukazuje tabulku s regresí určující, jaké proměnné se na kterém faktoru PCA podílejí. Není také zmíněno, že analýzy byly prováděny separátně pro reflektance a pro plochy jednotlivých barev.

U analýz GLM bych také uvítal zmínit, jaké vysvětlující proměnné byly zahrnuty a u analýz s opakovaným měřením juvenilů, že se tedy jedná o smíšený lineární model.

Proč nebyla pro analýzu UV reflektance použita spektrofotometrická metoda, kde je měřena odrazivost jednotlivých vlnových délek? Myslím, že by celé práci prospělo prezentovat jak jednotlivé plochy (černá, bílá, šedá, žlutá) odráží jednotlivé vlnové délky.

Celkově je tato kapitola relativně nepřehledná, čtenář má pocit, že mu něco uniká a až s přečtením výsledků si vlastně ujasní, jaké všechny analýzy byly provedeny.

Výsledky

Výsledky jsou psány poněkud neobratně („Grafické zobrazenie je znázornené na Obr. 9 a Obr. 10.“). Text působí dojmem, že autorka není se statistickými metodami úplně familiární. Přehlednost výsledků nezvyšuje ani nesprávné odkazování na tabulky v přílohách (záměna přílohy VI a VII).

Nevím, zda není přílišným zobecněním mluvit o efektu Faktoru 1 PCA analýzy reflektance jako o prosté světlosti. Analýza ukazuje, že hodnoty Faktoru 1 rostou se vzrůstající světlostí a klesají s rostoucí plochou černé, ale zároveň zřejmě významně nerostou s rostoucí plochou bílé a naopak rostou s klesající délkou hran ve vzoru. Přinejmenším, bych zde uvítal podobné slovní zhodnocení.

Fakt, že na grafu PCA analýzy ploch jednotlivých barev je poměrně málo zobrazených pozorování (zvířat) lze pravděpodobně vysvětlit tím, že většina je právě uprostřed na hodnotě 0 pro obě osy a body se zde překrývají, mám pravdu? Pokud tomu tak je, znamená to, že většina zvířat má vyvážené zastoupení barev a pouze několik exemplářů vytváří ten efekt, který je v této analýze ukázán. Proč autorka vlastně očekávala, že se budou dospělci lišit v podílu jednotlivých barev?

Obr 20, 21, 23 – bylo pro mě trochu matoucí, že adulti byli vlevo, tedy obráceně než na grafech, kde byl věk jako spojitá proměnná (19 a 22) a proto byly veškeré efekty opačně.

Diskuze

Diskuze poměrně pěkně shrnuje výsledky práce (hodně mi pomohla pochopit, co vlastně vyšlo), nicméně v některých místech by určitě zasloužila více konfrontace se stávajícími poznatky. Až v diskuzi se čtenář dozví, jaké přesně byly autorčiny hypotézy a očekávání.

Zároveň si ale myslím, že je autorka se svými závěry v několika bodech možná až příliš opatrná a snaží se pozorované závislosti vysvětlit spíše nepřesnostmi v měření než biologicky zajímavými fenomény. Myslím, že se autorskému týmu podařilo nashromáždit poměrně robustní vzorek a mnohé efekty, které ukazují, jsou tak dobře podloženy.

Zjištěné rozdíly v reflektanci mezi obdobím rozmnožování a nerozmnožování lze podle autorky vysvětlit několika biologicky nezajímavými efekty. Jako zajímavý mi přijde efekt svlékání, bylo nějak ošetřeno jak brzo po/před svlékáním byly fotografie pořizovány?

Nemohl by trend tmavnutí generací gekončků v laboratorním chovu být opravdu biologicky zajímavý. U ptáků a savců je dobře doložený silný trend ke ztrátě kryptického zbarvení v zajetí (mnohdy velmi rychle – viz. urbánní kosi). Nerezignují gekončci v laboratoři na některý druh svého zbarvení (který je v přírodě činí světlými), např. v reakci na odlišné osvětlení v ubikaci, nebo relaxovaný predační tlak?

Fakt, že dospělci si zachovávají potenciálně výstražný pruhovaný vzor pouze v UV části spektra je dle mého soudu nejzajímavějším zjištěním této práce. Mohla by autorka navrhnout, kterým predátorům juvenilů a dospělců (konkrétně) by mohly být tyto UV signály adresovány. Musí se jednat o Pákistánské, UV vnímající a soumravně-noční herpetofágy. Liší se spektrum těchto predátorů pro juvenilů a dospělce (hlavně asi z důvodu velikosti)?

Přílohy

Nejsem si jist, proč je v přílohách obrázek, který je také v Literárním přehledu (Příloha VI).

Nebyl jsem úplně nadšen formátem přílohy VII. Zahrnuje 14 tabulek, které ukazují rozptylové hodnoty (N, Mean, Min, Max, Var, StDev, CoefVar, StError) pro různé naměřené hodnoty, dospělců, samců, samic, na jaře, v zimě a juvenilů v různých věkových kategoriích. Uvítal bych, kdyby hodnoty byly prezentovány graficky (box a whisker plot) a hlavně, kdyby byly k sobě přiřazeny podle typu dat (např. reflektance jednotlivých ploch a celého ocasu ve viditelném+UV spektru), nikoliv typu zvířat. Bylo by tak mnohem snazší porovnat, to co porovnávat chceme. Chápu, že by se jednalo o velké množství grafů, ale soudím, že příloha by to unesla (ve výsledku by to zřejmě nezabralo víc prostoru než těch 14 tabulek) a informace o rozdílech a podobnostech by byla jasněji zprostředkována čtenáři.

Celkově musím konstatovat, že studentka ve své diplomové práci prokázala, že se dobře obeznámila s problematikou vnímání a odrážení UV záření a že je schopna nastudované informace poměrně srozumitelnou formou interpretovat. Dobře zvládla metodiku vlastního sběru dat, nashromáždila úctyhodný vzorek, zvládla práci se softwarem na zpracování pořízených fotografií a dokázala získaná data zhodnotit vhodnými statistickými přístupy. Výrazné rezervy pak vidím ve schopnosti dostatečně srozumitelně vysvětlit jaká má práce očekávání a hypotézy a jakými způsoby byly testovány. Také metodika statistických analýz a prezentace výsledků byla do velké míry nedostatečně popsána a místy tak nesrozumitelná. Zhodnocení vlastních výsledků naopak čtenáři hodně pomohlo, ale naopak chybělo zasazení do rámce stávajících poznatků v oboru.

I přes všechny zmíněné výtky a nedostatky si myslím, že předložená diplomová práce splňuje požadavky na ni kladené a proto ji doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnocení velmi dobře až dobře s ohledem na průběh obhajoby.

V Českých Budějovicích 30.8.2018

.....
RNDr. Petr Veselý, Ph.D