

Posudek oponenta na diplomovou práci Bc. Jana Ehla: Reverze pohlaví u ještěra s genotypově určeným pohlavím (Squamata: Acrodonta: *Pogonsa vitticeps*).

Katedra ekologie PřF UK Praha

Školitel: doc.Mgr. Lukáš Kratochvíl

Práce má celkem 22 stran textu a je citováno 61 literárních zdrojů. Kdyby celý text byl psán jako manuscript zaslaný do tisku a byl opatřen rozsáhlejším úvodem do studované problematiky, který by šel do hloubky problému, byl by rozsah spisu odpovídající. Bohužel předkládaný spis má tuto ambici, ale svojí formou záměr nenaplnuje. Celý text je svým stylem a myšlenkovou náplní značně nevyvážený. Celkem zdařilé pasáže úvodu jsou místy narušeny myšlenkově nekonzistentním textem (např. konec kapitoly 2.2. Teplotně určené pohlaví na str. 10). Text je místy nesrozumitelně sepsán – např. grafy jsou zcela jasné, ale komentář, proč tam jsou, a co z nich vyplývá, není smysluplný. Jinak je úvod poměrně zdařilou kompilací a obecně zmiňuje většinu relevantních témat jako je determinace pohlaví, genotypově určené pohlaví a vývoj gonozomů a determinačních genů, a konečně některé příklady reverze pohlaví u savců a plazů. Celkem povedená je kapitolka Zaměření diplomové práce, která vysvětluje, proč vlastně byla práce zadána. Pokud ovšem je diplomová práce založena na replikaci a metodologickém rozšíření již publikované práce (Quin et al. 2007), musí být metodika použitá v publikaci, zjištěné výsledky a to, co v práci ještě nebylo uděláno prezentováno již v teoretickém úvodu. Jsou zde uvedeny pouze metodologické nedostatky v determinaci revertovaného pohlaví, ale domnívám se, že takto stručně podané to nestačí. Nelze pak v závěru určit, co vaše práce přináší nového oproti věcem již známým.

V úvodu mi chybí snad jen podrobný popis proximálního mechanismu (anebo to co se o něm ví) u teplotní a hormonální reverzi, zejména proto, že se v diskuzi spekuluje o jejich společném základu. **Můžete doplnit?**

Kapitola metodika trpí mnoha prohřešky a je ještě více nevyvážená než úvod. Za hlavní chybu, která ztěžuje porozumění celé práci a experimentů v ní provedených, je absence kapitoly experimentální design pokusu. Jaké experimenty byly v jakém pořadí provedeny, kolik bylo jedinců, vajíček, snůšek zařazených do experimentů. Kolik typů kontrol bylo v jednotlivých experimentech, znovu – chybí počet jedinců (identita samic zakladatelek) zakládající generace, vajíček, snůšek, vylíhlých mláďat ap. Není jasné, zda byly v obou experimentech (teplotní reverze, hormonální reverze) zařazeny snůšky od obou samic, či jen od jedné. Z kapitoly výsledky a diskuze se čtenář dozvídá, že byly některé experimenty opakovány (popřípadě se data sbírala více sezon), což je normální, ale musí to být uvedeno.

Tyto informace (pokud jsou vůbec uvedeny) si čtenář musí dopočítávat a jsou roztroušeny v různých kapitolách. To, že byla prováděna z experimentálních důvodů reverze pomocí inkubační teploty, je uvedeno nejen v kapitole 4.1., ale i v kapitole 4.7. Modelový druh a jeho chov. Nicméně počet snesených snůšek a snůšek zařazených do experimentu chybí, chybí také údaj, kolik vajec z jedné snůšky bylo rozděleno do tří inkubačních teplot.

Některé metodické postupy jsou popsány do detailu a korektně (4.2 Hormonální ošetření, 4.6. Operace). Kapitola PCR je odbytá, student cituje předchozí práci a neobtěžuje se uvést žádné podrobnosti, ani použité primery ap. Nicméně stěžejní pro tuto práci je kapitola 5.2.

Histologické potvrzení reverze. Pokud tyto preparáty udělala firma a určil odborník, je to jenom dobře. Ale metoda, kterou to udělal, to jak se na preparátu histologicky pozná tkáň samčích a samičích pohlavních orgánů, a co je vlastně vidět za struktury na obr. 9, nám student nesděluje. Tudíž si čtenář, nespecialista, nemůže ověřit validitu histologického dokladu reverze (měřítko má být vyobrazeno přímo na fotografii, mělo by být uvedeno, co je to vlastně za řez, v které části ap.). Nebývale vysoká mortalita ve vašem experimentu nemusí být způsobena jenom experimentálním úsilím, ale může jít i o nezkušenost nebo chybu začínajícího chovatele. Pečoval jste o svěřená zvířata sám? **Jaká byla mortalita mlád'at v kontrolních skupinách?**

Protože není přesně uvedeno jaké byly kontroly, nelze se ani divit, že nebyl proveden žádný pokus o statistické zhodnocení. Například u líhivosti a mortality mlád'at v jednotlivých skupinách by to jistě šlo. Nicméně důkaz o tom, že se reverze podařila, je kvalitativní a je potvrzena několika nezávislými metodologickými postupy, včetně velmi náročných operativních zákroků na živých zvířatech. Toto mělo být a je největším kladem obhajované práce.

Diskuze je celkem povedená a věcná, zamýšlí se celkem zdařile nad obecnou platností zjištěné reverze pohlaví a nad ultimátním významem přechodu od genotypového určení pohlaví zpět k pohlaví teplotně určenému. Postrádám však srovnání s předchozí experimentální prací Martiny Pokorné na obdobné téma o hormonální reverzi u gekona *Paroedura picta*. Srovnání výsledků u obou modelových druhů by bývalo mohlo být přínosné.

Nicméně místo konstatování, že většina mlád'at chcípla, a proto se experiment opakoval znovu, a proto mlád'ata nejsou dospělá a nejde u revertantů ověřit fertilitu, by bylo dobré již od počátku se zaměřit na další parametry s výslednou fitness od vylíhnutí korelujících: hmotnost mlád'at při vylíhnutí, rychlost růstu mlád'at u revertantů, kontrol, kde byl kapán na vajíčka líh a zcela nemanipulovaných kontrol. Zdá se, že kromě fertility může hrát roli i snížená či zvýšená fitness revertantů. To ovšem není výsledkem této práce, ale jiné, recentně publikované studie (Holleley et al.2015), jak v diskuzi předložené diplomové práce píše autor.

Celkově jde tedy o velmi atraktivní a jednoznačně zadané téma, které mohlo být s úspěchem publikované v prestižním časopise. Výsledná diplomová práce zůstala v řešení problému někde napůl cesty. Práce zopakovala experiment s reverzí pohlaví za pomoci teploty a celkem spolehlivě prokázala reverzi samčího pohlaví na samičí pomocí vysokých dávek estradiolu. Nicméně úmrtnost, růst a fertilita revertantů, tedy přímé důkazy o vlivu na fitness revertovaných jedinců podchyceny nebyly.

Další otazy k obhajobě :

- 1) Jaký byl váš konkrétní přínos (vyjádřete podíl vlastní vložené práce) k celkovému řešení zadaného tématu, z předloženého spisu to bohužel není zřejmé a je patrná jasná disproporce mezi sofistikovaným zadáním projektu a celkovým výsledkem a zpracováním některých pasáží předkládané práce.**

- 2) Jaký je rozdíl mezi pojmy pohlavní chromozom, gonozom, heterochromozom, heteromorfní chromozom ?
- 3) Recentní práce (Holleley et al.2015) i autor sám poukazuje na současně aktuální použití kombinace různých molekulárních a biochemických metod, které mohou barvit specificky heterochromozom v metafázi, ale tyto metody student nevyzkoušel, jak sám píše z finančních důvodů. Přináší tyto metody něco kvalitativně nového, byla by některá z těchto metod či jiných podobných metod pro vámi řešenou problematiku relevantní, která a proč?

Formální pochybení, která jsou v práci tohoto rozsahu jsou závažná:

Popisky k obrázkům. Na straně 9, 10 jsou obrázky (Obr.1, Obr.2, Obr.3), kde z textu vyplývá, že jde o ilustrace přejaté z již publikované práce, nicméně práce není v popisku citována, což je nepřípustné. Navíc, komentář k obrázku 3 je zcela nedostatečný a nedovoluje čtenáři pochopit proč byl obrázek zařazen.

Popisek k obrázku 9. je zcela nedostatečný, jde o obrázek, který je pro vaši práci klíčový.

Popisek k Tab. 1. je matoucí a nedostatečný, nejde o ilustrativní tabulku, ale o výsledek experimentu. Teprve z této tabulky jasně vysvítá kolik jedinců vlastně bylo v kterém experimentálním ošetření.

Kapitola 5.3. ačkoliv jste práci podle úvodního prohlášení vypracoval zcela samostatně, mluvíte v množném čísle: „odchovat teplotně revertované jedince se nám z neznámých důvodů nepodařilo“ ap.

Citace nemají jednotný formát, jsou uváděny někdy zkratky, někdy jsou uvedeny celé názvy časopisů, knihy jsou citovány špatně, a u některých citací chybí periodikum úplně (např. citace 29, 30, 32). Na některých místech jsou latinská jména zvířat psaná kurzívou, jinde ne. To by bylo odpustitelné v bakalářské práci, nebo v diplomové práci jejíž rozsah vysvětluje časovou tíseň při jejím dokončování – a to není případ této práce.

V závěru lze nalézt hrubky ve shodě podmětu s přísudkem a vynechaná písmena, znovu chybné použití plurálu ap.

Závěrem konstatuji, že práce splnila některé zadané cíle a přes celou řadu dílčích nedostatků měl student možnost naučit se celou řadu myšlenkových i experimentálních postupů a proto práci doporučuji k obhajobě.