

Oponentský posudek

Diplomová práce: **Vliv kvality potravy na poměr pohlaví modelového pěvce**

Autorka: **Lubomír Tomiška**

Praha 2015

Posudek vypracoval: RNDr. Michal Vinkler, Katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Anotace:

Diplomová práce **Lubomíra Tomišky** s názvem „**Vliv kvality potravy na poměr pohlaví modelového pěvce**“ je sepsána na 49 stranách. V rešeršním úvodu práce, který zahrnuje 23 stran, se autor relativně podrobně zmiňuje o hypotézách vysvětlujících vychýlení poměru pohlaví od předpokládaného poměru 1 : 1 pro samce a samice, diskutuje fyziologické mechanismy, které by mohly být za vychýlený poměr pohlaví zodpovědné a uvádí evidenci existence tohoto fenoménu u ptáků v přírodě a v chovu (rozsáhlá Tabulka 2 obsažená na šesti stranách). Následujících devět stran popisuje metodiku experimentální části práce, tři strany jsou věnovány výsledkům a šest stran diskusi. Práce obsahuje v seznamu literatury celkem 124 citací.

Formální stránka práce:

Celá práce je psána poměrně srozumitelně, ačkoliv jazyk je místy poněkud laický. Některé obraty jsou nepochopitelné či nesprávné formulované (např. sdělení v abstraktu, že se nedaří najít adaptaci, která by manipulaci poměrem pohlaví objasnila), ale těch není mnoho. Vizualně působí práce uspořádaně, formátování je zdařilé.

Podstatnou slabinu vidím hlavně v rozložení jednotlivých pasáží textu. Velice dlouhý a relativně podrobný obecný úvod není nijak zvlášť cílený na obsah vlastní práce (předpoklady pro experiment), spíše tvoří široký základ (tak, jako je to běžné u bakalářských rešerší). Metodika se zabývá především popisem chovu zebříček a práce tak nabývá rysů chovatelské literatury. Například se ani v metodice ani pak ve výsledcích neuvádí, kolik mláďat bylo kontrolních a kolik pokusných, ani z kolika kontrolních / pokusných hnízd mláďata byla a od kolika párů (uvádějí se jen souhrnné počty, přitom s odkazem na skutečnost, že ne všechny páry dokončily snůšku, některé hnízdily opakovaně a ne u všech zárodků se podařilo určit pohlaví). Na rozdíl od úvodu a metodiky jsou výsledky velice krátké (ale to tak bývá, byť zde je to trochu extrémní) a jsou následovány dosti nedokonalou a rovněž krátkou diskusí. Přitom právě diskuse by měla tvořit zásadní část textu, ve které autor vysvětlí, k čemu bylo to, co dělal, dobré a jak lze využít nové poznatky, které získal. Jedno jediné osamocené souvětí v kapitole 4.2 mi opravdu nepřijde jako odpovídající diskuse k jedné polovině výsledků práce.

Výběr některých drobných formálních nedostatků:

- Anglický abstrakt: v odborném anglicky psaném textu se tvary apostrofy nezkracují
- Popis tabulky by měl být nad ní.
- Terminologická nejednotnost – jen zřídka se text opírá o definice z Tabulky 1 (uváděné též v Tab. 2)
- PCR není analýza, ale metoda amplifikace DNA
- Struktura úvodu: Neškodila by samostatná kapitola o kys. listové a jejímu vztahu k metylaci centromer, resp. metylaci DNA obecně. Velká pozornost je věnována jevům a faktorům, které zůstaly ve vlastní práci neověřeny a neošetřeny.

- Vyjádření, že množství dat umožňuje „důstojnou“ interpretaci výsledků (str. 36) považují vzhledem k dále uvedenému za značně subjektivní tvrzení.

Obsahová stránka práce:

Po stránce úsilí, které muselo být při zpracování tématu vynaložené, nepovažuji tuto práci za nenáročnou či jednoduchou. Naopak si myslím, že musel autor věnovat experimentální práci i literární rešerši hodně času a energie. Nemohu si však pomoci, výsledek tohoto snažení je zpracován způsobem, který mi připomíná spíš práci bakalářskou než diplomovou. V rešeršní části práce autor sumarizoval relativně velký soubor literatury o poměru pohlaví u ptáků a faktorech, které by jej mohly ovlivňovat. Přesto se nepokusil tato data nijak zanalyzovat, a to ani ve světle skutečnosti, že výsledky vlastního pokusu prakticky nic neukázaly. K čemu tedy to úsilí? V diskusi byla použita jen malá část nashromážděných údajů. Nějaká forma metaanalýzy, pokud by byla možná (jen na základě Tabulky 2 možná není) by práci rozhodně pozvedla. Anebo taková metaanalýza už existuje?

Přínosnější nejsou ani vlastní výsledky. Samozřejmě do určité míry chápu důvody, proč se zpracování tématu ubíralo směrem, kterým se ubíralo. Přesto s tím nesouhlasím a jako oponenta mě dosti dráždí formulace typu „Vzhledem k tomu, že pokus neprobíhal v akreditovaném zařízení, ...“. Toto tvrzení se opakovaně objevuje jako zdůvodnění neschopnosti autora provést ty či ony potřebné úkony či měření. Nebylo možné kontrolovaně aplikovat kyselinu listovou, nebylo možné zjistit efekt manipulace na obsah kyseliny listové ve tkáních, nebylo možné provést pokusy, které by umožnily sledovat přímý vliv kyseliny listové na mitózu. Otázkou pak zůstává, proč se tedy podobný výzkum nedělal v akreditovaném zařízení a pokud to nebylo možné (byť taková zařízení jsou u nás i v nedalekém zahraničí), zda měl takový výzkum vůbec smysl. Školitel práce má skvělé chovné kapacity plazů, které mohly být využity k řešení trochu jiných, přesto však neméně zajímavých otázek adekvátním způsobem. Nekontrolovaných faktorů je nakonec v této práci víc než těch kontrolovaných a negativa velice nepřímého sledování efektu kyseliny listové na poměr pohlaví mláďat jasně převažují. Mimochodem, nechci být hnidopich, jak je opakovaně zmiňováno, chovatelské zařízení nebylo akreditované, ale přece jenom – použité klece byly poloviční, než je pro pokusy na zebříčkách dovoleno prováděcí vyhláškou k zákonu na ochranu zvířat proti týrání. Krom toho, fotografie v práci naznačuje výrazně nerovnoměrné rozložení světla mezi klecemi, což mohlo ovlivnit biorytmy zvířat. Mohla být nízká líhivost (nevylíhla se ani polovina vajec) zapříčiněna špatnými podmínkami chovu? Tak dramatický neúspěch v líhnutí mohl mít vliv na výsledek pokusu.

Otázky a poznámky k experimentálnímu designu a interpretaci výsledků:

1. V úvodu k Trivers-Willardově hypotéze chybí zmínka o tom, které pohlaví by mělo mít i přes špatnou kondici (nižší alokaci zdrojů rodiči) větší šanci v reprodukci uspět? Které pohlaví bude mít naopak vyšší reprodukční úspěch v dobrých podmínkách?
2. Autorovo vyhodnocení obecné nevýhodnosti postovulační manipulace poměrem pohlaví (např. na str. 19, 3. odstavec dole) se opírá o energetickou náročnost tvorby a následné resorpce/mortality vajíček / zárodků. Nejsem si ale jistý, jestli se spíš nejedná o intuitivní očekávání. Předpokládám, že adaptivita takovéto strategie bude výsledkem poměru „costs“ k „benefits“. Nemohl by podobný mechanismus za určitých podmínek přeci jenom přinášet v dlouhodobé perspektivě výhody z hlediska fitness, které by náklady kompenzovaly?
3. Mohla nepřírozená sociální struktura maskovat faktory, které by normálně vedly k výchytkám poměru pohlaví?

4. Práce neobsahuje evidenci o tom, že jsou ptáci skutečně za nějakých podmínek limitováni příjmem kys. listové coby donoru pro metylaci centromer. Pokud tomu tak není, resp. pokud tento předpoklad nebyl ověřen, má provedený experiment smysl?
5. Existují alternativní donory metylových skupin? Pokud ano, nemohly být kontrolními zvířaty použity namísto kys. listové?
6. Pokud jsem pochopil, semena nebyla loupaná (což ztěžovalo dávkování kys. listové, ale také zvyšovalo její obsah v potravě). Proč nebyla použita standardně loupaná semena, např. jáhly?
7. Nebylo možné sledovat pořadí snášení vajec pro určení pohlaví prvního mláděte?
8. Nebylo možné sledovat prodlevy mezi snášením, které by naznačovaly selektivní resorpci vajec?
9. Proč se zárodky neodebíraly automaticky např. po 4 dnech inkubace a pohlaví se nestanovovalo pouze molekulárně? (zabránilo by to degradaci DNA a umožnilo by to vztáhnout pořadí snášení vajec k jejich pohlaví – embryo není podle zákona živočich, ukončit vývoj zárodku je po právní stránce v pořádku i v neakreditovaném chovu). Jaká je pravděpodobnost špatného určení pohlaví u mláďat podle exteriérových znaků („špatný“ samec vs. „dobrá“ samice)? Byl tento potenciálně chybový faktor nějak prověřen (molekulárně?).
10. Statistika je popsána dosti kuse a ačkoliv hlásí opak, z tabulky ve výsledcích se mi zdá, že i identita páru byla počítána jako fixní nikoliv náhodný faktor – je to tak?
11. Autor předpokládá, že vychýlení poměru pohlaví v řádu jednotek procent nemůže mít v evoluci význam (str. 36). Je tomu opravdu tak, pokud uvážíme velikost populace a efekt na fitness v čase (např. přes několik generací)? Lze spočítat sílu testu, která by ukázala, jak rozdílné by v poměru pohlaví soubory musely být, aby byl v tomto experimentálním designu nalezen signifikantní rozdíl mezi skupinami?

Závěr diskuse bohužel práci příliš nevylepšil - už jen formulace: „Hypotéza tak vznikla na poptávku podmínkám, které jsem byl schopný ptákům zajistit“ mi přijde vědecky chybná. Pokud nejsem schopen naplánovat experiment tak, aby odpověděl na otázku, která mne zajímá, nemohu experiment provést. Proto, narozdíl od autora, práci nepovažuji za evidenci pro absenci efektu metylace DNA na poměr pohlaví mláďat.

Závěr:

Přes všechny nedostatky po vědecké stránce práce splnila svůj účel. Data byla shromážděna, vyhodnocena a jakžtakž diskutována. Autor sice měl lépe promyslet obsah své diplomové práce než na ní začal pracovat a i poté minimálně mohl věnovat větší pozornost diskusi výsledků, ale jinak lze konstatovat, že ve všech ohledech hodnocených u diplomových prací určité úsilí vynaložil (místy patrně nemalé, např. co se týče chovu zvířat, jindy relativně chabé, např. co se týče zmiňované diskuse) a výsledků dosáhl.

Navrhované hodnocení:

Diplomovou práci Lubomíra Tomišky doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 27.8. 2015,

Michal Vinkler