

Oponentský posudek na magisterskou práci

Název práce: Aktivita telomerázy u termita *Prorhinotermes simplex*

Autor: Jehlík Tomáš

Oponent: Ing. Jiří Bárta, Ph.D.

HODNOCENÍ PRÁCE – OBSAHOVÁ STRÁNKA

název

- ☒ (x) dobře vystihuje obsah práce, je věcný a stručný
- ☐ () vystihuje obsah práce, avšak ne zcela jednoznačně, věcně a stručně
- ☐ () nevystihuje obsah práce

cíle a hypotézy

- ☐ () jasně formulované
- ☒ (x) nejasně formulované
- ☐ () chybí

úvod a literární přehled

- ☐ () jasný a přehledný, vztahuje se k zadané problematice a obsahuje dostatečné množství informací, které shrnuje na přiměřené úrovni poznání v dané oblasti; kriticky hodnotí použité informace
- ☒ (x) nepřehledný – nelogicky členěný, bez kritické analýzy, avšak s dostatečným množstvím informací
- ☐ () příliš stručný (s nedostatečným množstvím podkladů) nebo nevýstižný a ke zpracovávané problematice se vztahuje pouze částečně

použité informační zdroje založené zejména na

- ☒ (x) původní zahraniční a domácí literatura
- ☐ () učebnice, slovníky a monografie
- ☐ () „šedá literatura“

použitá literatura

- ☒ (x) v odpovídajícím rozsahu
- ☐ () v nedostatečném rozsahu

materiál a metody

- ☐ () jasně, přehledně a srozumitelně, nechybí nic podstatného, množství materiálu (pozorování, opakování v prostoru a čase) a použité metody jsou takové, že pomohou splnit vytčené cíle
- ☒ (x) jasně a srozumitelně, nechybí nic podstatného, ale množství materiálu je nedostačující
- ☐ () nesrozumitelné (není možno posoudit adekvátnost použitých metod a materiálu) nebo nedostatečně popsán
- ☐ () nevhodně zvolené metody, nemohou dát odpověď na vytýčené cíle

výsledky

- ☐ () vhodně prezentované, odpovídají použité metodice, k vyhodnocení použity vhodné statistické metody,
- ☐ () zbytečně se opakující výsledky (např. dvojí prezentace v tabulkách i grafech), k vyhodnocení použity vhodné statistické metody
- ☐ () k vyhodnocení nebyly použity vhodné statistické metody
- ☒ (x) prezentace nedostatečná

interpretace dat (diskuse)

- () odpovídající, autor prokázal dobrou znalost studované problematiky, vhodně cituje dostatečné množství literárních zdrojů
- () diskuse dat je nedostatečná (diskuse neodpovídá úrovni a rozsahu uvedených dat)
- (x) daty nepodložená, svým rozsahem neodpovídá zpracovaným datům a údajům, spekulace převládají nad fakty

závěry

- () práce má jasné a jednoznačné závěry, které jsou podloženy a odpovídají na cíle a hypotézy práce
- (x) závěry jsou sice přesné a podložené, ale úplně neodpovídají cílům práce, nebo některé cíle a hypotézy nejsou zmíněny
- () závěry nejsou podloženy či nevycházejí z předkládané práce

HODNOCENÍ PRÁCE - FORMÁLNÍ STRÁNKA

obrázky a tabulky

- () přehledné a obsahují dostatečné množství informací
- (x) nepřehledné, ale obsahují dostatečné množství informací
- () nejsou součástí textu
- () nevyhovující

text

- () formálně dokonalý
- (x) bez větších formálních nedostatků
- () po formální stránce nevyhovující (nemá doporučené členění)

jazyk

- () odpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu
- (x) částečně odpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu
- () neodpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu

literatura

- (x) citována bez chyb, jednotně, citace použité v textu odpovídají seznamu literatury a způsob citací odpovídá mezinárodním nebo českým normám (méně než 5 chyb na práci)
- () citována s chybami, nejednotně, citace v textu neodpovídají seznamu literatury (chybějící nebo přebývající citace)

obsažené informace jsou

- () pro obor nové nebo rozšiřující poznání a v dostatečném rozsahu, mohou tvořit základ publikace v odborném vědeckém časopise
- (x) pro obor nové, ale samy o sobě nemohou tvořit základ publikace v odborném vědeckém časopise
- () jsou cenným potvrzením (aplikací) známých skutečností
- () jsou jen opakováním již známých skutečností bez nového přínosu

V případě potřeby přiložte doplňující komentář. Slovní hodnocení je **povinné** v případě, že se oponent obhajoby osobně nezúčastní.

Předkládaná práce si klade za cíl zjistit, zda aktivita intracelulárního enzymu telomerázy může souviset s kastovní diferenciací a regulací délky života u termitů druhu *Prorhinotermes simplex*.

Anotace

V práci postrádám anotaci v českém jazyce. Pokud bude práce obhájena, je nutno ji doplnit.

Rešerše

Práce samotná má bez seznamu literatury 27 stran. Z toho celých 14 stran je věnováno literární rešerši, tj. tvoří více než polovinu z celkové práce. Rešerše je z mého pohledu velice podrobná, je čtivá a uvádí čtenáře obecně do ekologie termitů. Forma úvodní části není ale bohužel psaná formou kritické rešerše v souvislosti s kladenými cíli. Pro ne-entomologa, kterým jsem např. i já je sice hezké, že se dozví teoretické základy kastovních systémů termitů, jejich taxonomické rozdělení a různé teorie stárnutí, to lze ale podle mého názoru shrnout do jedné úvodní kapitoly a posléze se plně věnovat opravdu kritické rešerši. Také řazení kapitol bych volil jinak, např. teorie stárnutí bych zařadil až za obecný úvod o termitech. Poslední kapitola, věnovaná hormonům a feromonům, naznačuje, že by se práce mohla týkat i těchto látek. Hormony ovlivňují kastovní diferenciaci a jejich množství v těle termitů by bylo zajímavé dávat do souvislosti s aktivitou telomerázy.

Výsledky

Autor naměřil podle mého názoru velice cenná data, která jsou ale prezentována velice jednoduchou formou, bez výrazných souvislostí, nebo korelací, což mi přijde jako velká škoda. Např. by bylo určitě zajímavé se podívat na produkci hormonů, které přímo souvisejí s kastovní diferenciací. A jak jsem zmínil výše, poslední kapitola rešerše právě na hormony jako hlavní hybatele kastovní diferenciacie poukazuje.

Některé výsledky bych prezentoval jinak, než je uvedeno v předkládané práci. Např. hned v kapitole 4.1., kde se porovnává aktivita telomerázy v kolonii s neotenickým a primárním párem. Zde bych dal do jednoho grafu obě varianty a ty statisticky vyhodnotil. Např. (hlava-dělník s neotenickým párem vs. hlava-dělník s primárním párem). Data jsou prezentována pro každou variantu zvlášť a čtenář tak musí skákat z jednoho grafu na druhý. Navíc je v grafech na ose „y“ jiné měřítko, což porovnání ještě více stěžuje. Člověk tak víceméně musí věřit tomu, co se píše v textu.

Dále pak u kapitoly 4.3 čtenář z názvu kapitoly čeká zhodnocení vývoje aktivity telomerázy v čase (tj. pro jednotlivá stáří neotenických králů a královen), a dále zhodnocení rozdílů mezi králi a královnami v jednotlivých časech. Místo toho se diskutuje vztah s dělníky, u kterých z grafu nevyplývá, jak jsou staří.

Z formálního hlediska jsou ve výsledcích použity nesprávné formulace vět, které odvádí zbytečně pozornost od vlastních dat. Např. věty typu: „Srovnáním aktivity... lze pozorovat, že aktivita postupně klesá,“ – str. 20, 2. odstavec. Místo toho lze jasně a výstižně napsat: Aktivita klesala (Obr. XY).

Diskuse

Diskuse je krátká (cca 2 stránky) a velice vágně se v ní diskutují naměřená data s literaturou. Až v diskusi se vlastně dozvídáme, jaká byla stanovena pracovní hypotéza. To považuji za jednu ze zásadních chyb práce, kdy hypotézy musejí být jasně definované na začátku práce společně s cíli. Celá práce na mě tedy působí nedotaženým způsobem, kdy student naměřil v laboratoři mnoho cenných a nových dat, která jistě budou součástí kvalitní publikace. Na druhou stranu forma prezentace dat je nedostatečná, takto prezentovaná data bych si představil, že student přinese na první schůzku se školitelem a následně se začnou data smysluplně vyhodnocovat a dávat do souvislostí, případně doměřovat další parametry.

V závěru se sám autor marně ptá na fundamentální otázky, které si práce klade za cíl zodpovědět. Místo toho, aby nabídl alespoň částečné vysvětlení, zůstávají otázky viset v prostoru nezodpovězené.

Na závěr si dovoluji s nadsázkou říci, že práce na mne působí dojmem, že byl student „využit“ jako dělník v kastovním systému laboratoře, kde naměřil spoustu cenných dat, ale nebyl zasvěcen do správné interpretace a následných statistických analýz, což je obrovská škoda. Nevím, zda hrál roli čas nebo jiné faktory, každopádně hlavně z těchto důvodů navrhuji známku „dobře“.

Otázky

1. Může souviset střevní mikroflóra s vývojem termitích společenstev (dlouhověkost, fitness, atd.)?
 - Máte k dispozici vzorky střev, kde by se dalo dodatečně určit složení mikrobiálního společenstva?
2. Existují další data, kromě aktivity telomerázy? Mám na mysli např. analýzy specifických hormonů spouštějících kastovní diferenciaci?
3. Aktivita telomerázy roste s věkem ve střevech králů a královen. Jaké máte pro to vysvětlení? Může to souviset se změnou střevní mikroflóry nebo čím královnu dělníci krmí, atd.?

doplňující komentář přiložen ANO (x) NE ()

Práce splňuje - ~~nesplňuje~~ požadavky kladené na magisterské práce předkládané na PřF JU, a proto ji doporučuji – ~~nedoporučuji~~ k obhajobě¹.

Práci hodnotím klasifikačním stupněm¹

DOBŘE

Datum: 13.1.18

Podpis oponenta: 

¹ nehodící se škrtněte



V Olomouci 3. ledna 2018

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Tomáše Jehlíka

Aktivita telomerázy u termita *Prorhinotermes simplex*

Předložená diplomová práce se v teoretické části zabývá problematikou dlouhověkosti sociálního hmyzu se speciálním zaměřením na termity, praktická část diplomové práce se pak zaměřuje na stanovení relativní aktivity telomerasy u různých vývojových stádií termitů nebo dílčích orgán odebraných jedincům různého stáří i kasty.

Celá práce je psána čtivě bez pravopisných chyb a s jen ojedinělým výskytem překlepů z nepozornosti. Autor vychází z několika desítek původních zdrojů převážně psaných v anglickém jazyce a publikovaných ve vědeckých časopisech. Text diplomové práce je poměrně stručný a krátký. Teoretická část práce shrnuje dosavadní poznatky o molekulárně-biologickém významu telomerasy, velká část se pak zabývá biologickým popisem života termitů, což souvisí s cílem práce – studiu aktivity telomerasy u různých kast a u různě starých jedinců. Na straně 11 je uveden obrázek, který je v nekvalitním rozlišení, také není uveden autor nebo zdroj obrázků vývojových stádií termitů. Stanovené cíle práce jsou formulovány jasně.

Popis metod uvádí kvantifikaci proteinů podle obecně známého protokolu dle Bradforda, avšak pufr pro extrakci proteinů obsahuje 0,5% CHAPS. **Ověřoval autor, zda tato koncentrace detergentu a současně chaotropního činidla CHAPS nemůže ovlivnit výsledek stanovení proteinů?** Detergenty totiž interferují s barvivem Coomassie Brilliant Blue a tím k získání nespolehlivého výsledku. **K čemu byl výsledek stanovení koncentrace proteinů použit, když tyto hodnoty nejsou uvedeny ve výsledcích?** Na straně 17 je uvedena rovnice $2Ct (ITAS) / 2Ct (vzorek)$, mohl by tento výpočet student blíže objasnit? Proč se hodnota Ct násobí číslem 2?

Výhradu mám ke grafům s výsledky a statistickým vyhodnocením. V grafech jsou uvedeny jednotlivé sloupce a hvězdičky, které mají znázorňovat statistickou významnost na různé hladině významnosti, viz kap. 3.6. Z grafů však není patrné, k jakým porovnáním se signifikance vztahuje. Například v textu kapitoly 4.1 se totiž píše o vztahování ke skupině „dělník“, ale následně se uvádějí i další porovnání, např. král – královna. Všechna tato porovnání lze v grafech i se statistickou významností znázornit do grafů, aby se tak grafické vynesení stalo přehlednějším. Čtenáře totiž navíc může mást v kapitole 3.6 zmiňována metoda Bonferoniho srovnávacího testu, která ale porovnává všechny skupiny mezi testovanými skupinami, tzv. každou skupinu s každou skupinou.

V kapitole 3.6 se uvádí, že jednotlivé grafy jsou tvořeny z alespoň 3 hodnot, správně by měl být počet měření ($n=\dots$) měl být uveden u každého sloupce nebo skupiny.

Vzhledem k použití analýzy rozptylu (ANOVA) by mě zajímalo, zda byla testována normalita rozložení dat? Proč se normalita testuje?

Na obr. 3 jsou u abdomenu a dalších tělních částí králů a královen poměrně velké směrodatné odchylky, po přepočtu na variační koeficient půjde o velká čísla, **má to nějaké biologické vysvětlení?**

V diskusi autor píše (str. 25, odst. 3): „Správnost naší pracovní hypotézy, že regulace kastovní diferenciace a tím i rozdíly v délce života *P. simplex* jsou korelovány s aktivitou telomerázy, je utvrzena srovnáním reprodukčních a nereprodukčních jedinců...“ toto tvrzení autora je přinejmenším příliš odvážné, protože žádný korelační vztah není ve výsledkové části uveden a současně proto, že výsledky je nutno ověřit opakovaným experimentem. V závěru diskuse se zmiňuje význam telomerasové aktivity jako možné ochrany před oxidativním stresem. **Jaký by měl být dle autora mechanismus této ochrany? Jak reaktivní kyslíkové radikály poškozují biopolymery – lipidy, proteiny a nukleové kyseliny?**

Na závěr bych rád ocenil přínos diplomové práce pro současné poznání a věřím, že bude pro další vědce zdrojem výsledků, na které budou moci navázat.

Cíle práce byly splněny, práci doporučuji k obhajobě. Práci hodnotím klasifikačním stupněm velmi dobře.

Mgr. Jiří Danihlík, Ph.D.

Katedra BIOCHEMIE
Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého
Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc-Holice
<http://biochemie.upol.cz>

Katedra biochemie PřF UP v Olomouci

Mgr. Jiří Danihlík, Ph.D., Katedra biochemie
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Šlechtitelů 27 | 783 71 Olomouc | T: +420585 634 920, M: +420 724 758 774
jiri.danihlik@upol.cz