



Magda Vítková
Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
a
Biologické centrum AV ČR, Entomologický ústav
Branišovská 31, České Budějovice, 370 05



Posudek školitelky na bakalářskou práci Jany Novotné

„Optimalizace cytogenetických technik na modelovém druhu mšice *Diuraphis noxia* (Aphididae)“

Původním cílem Janiny bakalářské práce bylo sestavení karyotypů vybraných druhů korovnic (Adelgidae), identifikace alespoň některých chromosomů pomocí cytogenetických metod a molekulárních markerů za použití fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) a porovnání získaných dat u několika druhových komplexů, které se u českých korovnic vyskytují. Ideálním výstupem práce pak měl být cytogenetický marker pro rozlišení druhů v druhovém komplexu, případně zjištění, že druhy se z cytogenetického hlediska neliší.

Záhy se ukázalo, že korovnice představují oříšek i pro zkušeného cytogenetika. Nejlepším stádiem pro přípravu chromosomálních preparátů se ukázalo být embryo, které je však kryto voskovou vrstvou, brání hypotonizaci a tím snižující možnost chromosomy zdárně rozptýlit. Mitotické chromosomy korovnic mají další neblahou vlastnost, a sice tvorbu řetízků, jejichž konce nelze bez pokročilejší molekulárně-cytogenetické metody rozpoznat a tím chromosomy počítat, natož identifikovat. Když se nakonec podařilo chromosomální preparáty připravit, počty chromosomů v jádrech téhož embrya se velmi lišily. Jana s těmito fakty statečně celý jeden rok bojovala, přičemž se jí podařilo výrazně vylepšit techniku přípravy chromosomálních preparátů. Protože však korovnice nelze chovat v laboratoři a vhodná stádia jsou k dispozici pouze po omezenou dobu, nemohla Jana připravit dostatečné množství chromosomálních preparátů pro další techniky, které měla podle původního plánu používat. Nakonec jsme se rozhodly od zkoumání korovnic upustit a zaměřit se na zástupkyni sesterské skupiny mšic (Aphididae), mšici zhoubnou (*Diuraphis noxia*), která je významným škůdcem obilovin, její chromosomy nejsou prozkoumány a na Entomologickém ústavu BC AVČR je k dispozici její laboratorní chov. Celá práce pak měla být koncipovaná jako návod pro Janina případného následovníka, který by chtěl chromosomy korovnic studovat. Jana, již vytrénovaná mnohaměsíční prací s korovnicemi, dokázala z *Diuraphis noxia* ve velmi krátké době připravit vynikající preparáty, sestavit karyotyp a identifikovat pohlavní chromosom X. Pomocí barvení dusičnanem stříbrným a FISH se sondou pro geny pro 18S ribosomální RNA úspěšně lokalizovala oblast organizátoru jadérka a pokusila se i o lokalizaci genů pro histony H3 a H4, která se však z neznámých důvodů nedařila. Nakonec se Jana pokusila označit telomery pomocí FISH s telomerickou sondou TTAGG, která se vyskytuje u velké části hmyzích druhů a s jejíž pomocí by bylo možné vizualizovat konce chromosomů u výše zmíněných chromosomálních řetízků korovnic. Protože se lokalizace pomocí telomerické FISH opakovaně nedařila, Jana provedla Southernovu hybridizaci, při které prokázala, že *D. noxia* sekvenci TTAGG ve svých telomerách nemá.

Po celou dobu Jana vykazovala velkou trpělivost, která byla potřeba zejména na počátku při náročné a frustrující práci s korovnicemi. Při práci s *D. noxia* si Jana osvojila řadu metod, kromě výše zmíněné přípravy chromosomálních preparátů, barvení dusičnanem stříbrným, FISH a Southernovy hybridizace i veškeré přípravné techniky jako izolaci DNA a výrobu a přípravu sond pomocí PCR a nick translace. Bakalářskou práci pak, dle mého

názoru, sepsala velmi kvalitně a zcela samostatně a její výsledky budou podkladem pro sepsání vědecké publikace. Práci proto doporučuji k úspěšné obhajobě.

Závěrem chci říct, že i když byla Jana tak trochu izolovaná tématem své práce v naší jinak „motýlí“ laboratoři, do našeho kolektivu skvěle zapadla a doufám, že v naší laboratoři zůstane i nadále.

V Českých Budějovicích
1.6.09



RNDr. Magda Vítková, Ph.D.