



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



Oponentský posudek na bakalářskou práci Andrey Jarošové

„Diagnostika druhových komplexů čeledi Adelgidae na základě molekulárních markerů“

Andrea Jarošová se ve své bakalářské práci zabývala hledáním molekulárního markeru, který by spolehlivě odlišil dva druhové komplexy korovnic (Adelgidae), dvojici *Adelges laricis/A. tardus* a *Sacchiphantes abietis/S. viridis*, které lze morfologicky rozeznat jen obtížně, v některých fázích jejich komplikovaného životního cyklu vůbec ne. Testovanými markery bylo sedm úseků mitochondriální DNA, z nichž jeden představovala podjednotka I cytochrom oxidázy, která se používá pro tzv. barcoding, tedy právě na genetickou identifikaci druhu. Dalších pět markerů byly geny z tzv. ATP oblasti a nakonec tzv. AT-rich oblast, kterou se však díky vysokému obsahu repetice nedařilo dobře amplifikovat.

Andrea pro svou práci analyzovala 50 vzorků, z nichž získala sekvence výše jmenovaných markerů, srovnávala několik typů izolace DNA, používala metody PCR, gelovou elektroforézu, čištění produktu PCR, sekvenování a zvládla počítačovou analýzu získaných sekvencí. Její výsledky ukazují, že oba druhové komplexy jsou bohužel geneticky homogenní a žádný z testovaných markerů se k rozlišení druhů nehodí.

Samotná práce je velmi dobře napsaná a téměř neobsahuje formální chyby (vytkla bych pouze názvy vyšších taxonů psané kurzívou). V úvodu nepoučený čtenář dostane informace o korovnicích i sledovaných markerech, metodika je podrobně popsána, takže pokusy by podle ní bylo možné zopakovat, výsledky jsou popsány jasně a obsahují informaci o počtu parsimoniálně informativních variabilních míst, vnitrodruhové a mezidruhové variabilitě a dendrogramy vytvořené na základě jednotlivých markerů. V diskusi jsou sice získaná data diskutována s literaturou jen v malé míře, což je ale způsobeno tím, že literatury o této malé skupině živočichů je velmi omezené množství. Histogramy pořízené po vyřazení zřejmě špatně určených vzorků (v částech diskuse 5.3.1. a 5.3.2.) podle mého názoru patří spíše do výsledků. K práci mám tyto otázky:

- 1) Dílčím cílem práce byla amplifikace mitochondriálních a jaderných markerů z DNA korovnic, nicméně všechny testované markery byly mitochondriálního původu. Proč nakonec nebyly jaderné markery zahrnuty do analýzy?
- 2) V závěru autorka zmiňuje, že pro rozlišení druhových komplexů korovnic jsou fragmenty mitochondriální DNA nevhodné a bude třeba se zaměřit na jadernou DNA. Jaké jaderné markery jsou plánovány pro další analýzu?
- 3) Jedním z testovaných markerů byla i podjednotka I cytochrom oxidázy (COI), kterou ve stejné laboratoři v rámci své bakalářské práce zkoušela a vyloučila už Pavlína Věchtová. Proč byl tento marker používán znovu?

4) V části diskuse č. 5.3.2. autorka vysvětluje neobvyklou pozici vzorku 10141 v dendrogramu špatnou sekvencí. Proč nebyla sekvenační reakce zopakována?

5) Vzorky č. 2947, 10311 a 11660 byly vyřazeny z analýzy, protože byly velmi pravděpodobně špatně určeny (byly na základě všech markerů řazeny mezi jedince jiného rodu). Zajímalo by mě, jak jsou si rody *Adelges* a *Sacchiphantes* morfologicky podobné a na základě jakých znaků se od sebe rozpoznávají.

Závěrem prohlašuji, že předložená práce plně splňuje požadavky kladené na bakalářskou práci na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a proto ji doporučuji k úspěšné obhajobě.

V Českých Budějovicích
26.5.09



RNDr. Magda Vítková, Ph.D.