



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 Věry Slaninové

„Genetická variabilita přírodních populací *Diuraphis noxia* (Aphididae)“

Autorka se ve své práci zabývá využitím molekulárních markerů pro studium populací mšice zhoubné (*Diuraphis noxia*). Práce má v zásadě dvě části: část rešeršní, která obsahuje přehled metod a molekulárních markerů, které se používají pro rozlišení druhů či zkoumání vnitrodruhové variability, a část experimentální, ve které autorka analyzovala sedm alozymových markerů, jeden z nich na úrovni sekvence DNA.

Je mi známo, že tato bakalářská práce měla být původně čistě rešeršní a teprve dodatečně přibyla i experimentální část, což bylo v konečné podobě dobré pro Věru, která se výborně teoreticky seznámila s problémem a zároveň nebyla ochuzena o práci v laboratoři. Na druhou stranu z kompozice bakalářské práce je evidentní, že se autorka přes toto oddělení úplně nepřenesla. Za každou cenu se snažila udržet rešeršní a experimentální část zvlášť a zároveň dodržet klasické členění úvod-metody-výsledky-diskuse, která je vhodná pro experimentální práci, ale poněkud zvláštní u rešerše. Práce začíná společným úvodem k oběma částem, výsledky a diskuse jsou pro experimentální a rešeršní část oddělené. Podle mého názoru by bývalo v tomto případě lepší buď obě části zcela oddělit, (tj. začít cíli práce: a) vypracovat rešerši, b) analyzovat alozymy u *D. noxia*) a obě části úplně oddělit, nebo lépe obě části důsledně propojit.

Menší výhradu mám i k členění samotné rešeršní práce, kde autorka místy nerespektuje členění, pro které se sama rozhodla. Konkrétně v první části jsou popsány metody, které se pro danou problematiku používají, v druhé části pak markery a druhy, u kterých byly použity. Výjimkou je kapitola „Sekvenační metoda“, která obsahuje podkapitulu „Mitochondriální DNA“, pojednávající o využití sekvencí mtDNA pro evoluční studie, a která by podle autorčina členění patřila spíše do druhé části o molekulárních markerech. Navíc by kapitulu o mtDNA měla následovat kapitola o využití genů z jaderné DNA jako markerů, která však chybí.

Na druhou stranu oceňuji, že u všech metod je jasně popsán jejich princip a řada pojmů je při prvním použití v textu vysvětlena. Rovněž v popisu experimentální práce je všechno pečlivě popsáno a vysvětleno, takže čtenář netápe a případný následovník by zřejmě byl schopen podle návodů experimenty zopakovat. Přesto mám několik krátkých komentářů a otázek:

Komentáře:

- 1) Server Wikipedia je dobrý zdroj informací pro získání základní orientace v problému, ale jedná se o mimořádně proměnlivé a ne vždy spolehlivé medium. Je proto potřeba jít do hloubky a citovat originální práce. Pokud jsou v textu použity informace např. z internetových databází, pak je potřeba uvést adresu databáze v seznamu literatury i s datem přístupu.
- 2) V popisku k obrázku 10 je psáno, že haplotypy barevně odpovídají značení na dendrogramu fylogenetických vztahů mezi jedinci, ale není tomu tak.

3) V kapitole 7.6 (str. 43) se praví, že se všechny vzorky podařilo alespoň jednou naamplifikovat pomocí PCR, ale sekvenace některých vzorků se nepodařila, zřejmě kvůli fragmentaci DNA v lihu. Domnívám se, že kdyby fragmentace DNA byla důvodem selhání sekvenační reakce, nepodařila by se ani počáteční amplifikace pomocí PCR.

4) Práce obsahuje drobné formální chyby a překlepy, což je ale v takto dlouhém textu pochopitelné.

Otázky:

1) Jaký je princip purifikace PCR produktů Exonukleázou I?

2) Jak se při analýze alozymů a mitochondriálních markerů řeší kontaminace endosymbionty?

3) Při studování alozymů jaký smysl mělo použití *Drosophila yakuba* a *Folsomia candida*, čili zástupců velice vzdálených skupin, jako kontrolních druhů?

4) Fosfoglukomutáza (PGM) při předběžných experimentech nevykazovala žádnou variabilitu, narozdíl od fosfoglukoizomerázy (PGI) a malátdehydrogenázy (MDH). Proč tedy byla detailně analyzována PGM a ne PGI nebo MDH?

5) V kapitole 7.6 (str. 44) autorka píše, že více důvěřuje vztahům mezi haplotypy, které popisuje haplotypová síť, před těmi, které jsou zachyceny v dendrogramu vytvořeném metodou Minimum Evolution, protože v haplotypové síti jsou sdruženy haplotypy ze Španělska. Je možné, že by se jednalo o opakovanou invazi *D. noxia* do Španělska? Jak moc se dá důvěřovat kvalitě sekvence ze vzorku Sp4?

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

V Českých Budějovicích
21.5.2010



RNDr. Magda Vítková, Ph.D.