



PaedDr. Martina Žurovcová, Ph.D.
Biologické centrum AV ČR, Entomologický ústav,
Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Branišovská 31, České Budějovice, 370 05



Posudek školitele na diplomovou práci Bc. Daniely Chundelové

**Molekulární analýza mitochondriálního genomu
Diuraphis noxia (Aphididae)**

Téma předložené magisterské práce vychází z problematiky řešené v rámci společného grantového projektu laboratoře populační a evoluční genetiky a afidologické laboratoře na EntÚ AV ČR, jehož podstatou je zmapování genetické variability přírodních populací mšice obilné a posouzení fylogeografie tohoto druhu.

Daniela pracovala v naší laboratoři už během bakalářského stupně, kdy testovala jednotlivé markery pro populační genetiku mšic korovnic. Paralelně probíhajícím výzkum na *D. noxia* s obdobnou tematikou jí však také umožnil poznání, že mezi údaji z literatury a reálnou situací dochází k častým rozporům. *D. noxia* se totiž jeví jako druh s velmi nízkou genetickou variabilitou, což nás vedlo k tomu, aby v diplomové práci provedla analýzou celého mitochondriálního genomu, a na základě srovnání mitogenomu s příbuznými druhy našla více variabilní oblasti. Ačkoliv se může zdát, že v době genomových projektů je to úkol snadný, ukázalo se, že opak je pravdou. Přestože Daniela použila všechny tři standardní publikované postupy pro sekvenování celých mitochondrií, žádný z nich samotný nevedl ke kýženému výsledku, a teprve jejich kombinací a trpělivou a pečlivou prací s jednotlivými PCR amplikony se nakonec dobrala k úplné sekvenci. Jak se ukázalo, mitogenom *D. noxia* je neobvyklý nejen svým vyšším obsahem AT bazí, ale zejména jejich uspořádáním do „řetízků“, které pak zabraňovaly jak úspěšné amplifikaci, tak i sekvenování a nedařilo se ani dané fragmenty zaklonovat. V tomto ohledu Daniela prokázala velkou houževnatost, neboť některé úseky se podařilo amplifikovat skutečně optimalizováním snad všech parametrů – počínaje různě specifickými primery, střídání teplot annealingu, přidávání PCR „enhancerů“ a v neposlední řadě i snížení teploty elongace. Obtížnost jejího úkolu jistě potvrzuje i skutečnost, že před rokem a půl se začal sekvenovat i celý genom *D. noxia* (genomový tým vede dr. Gary Puterka, USDA-ARS, Plant Science Research Laboratory, United States), ovšem první pokus skončil nezdarem a bylo nutno vše zopakovat, takže nyní probíhá teprve jeho editování. S uvedeným týmem je naše laboratoř v kontaktu, a dohodli jsme se na tom, že mitogenom *D. noxia* budeme publikovat společně. Sekvence jednotlivých mitochondrií totiž pocházejí z jiných

biotypových linií a Daniela pak po jejich editaci svou práci obohatí i o analýzu vnitrodruhové variability.

V průběhu daného úkolu pracovala Daniela samostatně, pečlivě, a s potřebnou kreativitou i vytrvalostí. Sama také nastudovala programy pro editování genomu i následnou statistickou analýzu, kterou pak zdárně provedla. Výsledkem jejího usilí jsou pak originální data, která po dotažení detailů budou základem nejen připravované publikace, ale i dalšího výzkumu.

Předložená studie tedy splňuje požadavky kladené na diplomové práce, a proto ji k obhajobě

d o p o r u č u j i .

V Českých Budějovicích 27. května 2012.


PaedDr. Martina Žurovcová, PhD