



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v.v.i.

Entomologický ústav

adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice 600773441 DIČ: CZ60077344 telefon: +420 387 775 211
č. účtu: 5002209089/5500, Raiffeisenbank a.s. fax: +420 385 310 354 www.entu.cas.cz e-mail:
entu@entu.cas.cz

Posudek školitele na bakalářskou práci Nicole Jánové

Genetické markery pro druhovou identifikaci a studium genetické variability forenzně významných druhů masařek (Sarcophagidae).

Téma předložené bakalářské práce vychází ze spolupráce laboratoře populační a evoluční genetiky EntÚ AV ČR a Kriminalistického ústavu PČR, jejíž náplní je propojení základního a aplikovaného výzkumu v oblasti forenzní entomologie. Tato studie také navazuje na předchozí magisterskou práci, která byla zaměřena na čeled' bzučivkovité (Calliphoridae), a uplatňuje obdobné schéma, tj. na reprezentativním vzorku prozkoumat možnosti molekulárních markerů pro druhovou identifikaci i populačně-genetickou analýzu. V tomto projektu byly zahrnuty všechny druhy z čeledi Sarcophagidae vyskytující se běžně na území ČR. Obdobně jako v předchozí práci se Nicole zaměřila na markery sekvenční, a pokud možno „univerzální“, tedy použitelné u všech druhů masařek bez velkých úprav. Nicole musela na úvod na základě literatury porovnat a vybrat vhodné lokusy. To zahrnovalo i ověřování použitelnosti publikovaných primerů, a to nalezením homologních genů v genomu referenčního druhu *Sarcophaga bullata*. Dále pak následovala klasická PCR amplifikace a sekvenování, včetně případného klonování. Ve finální fázi pak byly získané sekvence podrobeny biostatistické analýze, zahrnují škálu postupů od úprav chromatogramů, přes zkoumání populačně-genetických aspektů až po predikci sekundárních struktur fragmentu ITS.

Nicole na svém projektu začala pracovat již na začátku 2. ročníku, a velmi rychle si osvojila všechna potřebné metody. Trpělivě prováděla optimalizaci PCR podmínek pro jednotlivé lokusy, což bylo nezbytnou podmínkou pro další práci. Bohužel však rozsah studie negativně ovlivnila epidemiologická situace — zejména co se týká množství čerstvě odebraných vzorků, z nichž byla PCR amplifikace úspěšnější. Původně plánované terénní sběry však nemohly být vzhledem k opatřením realizovány, což vedlo i ke skromnějším výsledkům v počtu získaných lokusů. Na druhou stranu toto omezení mělo i velmi pozitivní stránku ohledně analýzy fragmentu ITS, kdy se Nicole místo nerealizovatelného skríninku vnitrodruhové variability zaměřila na zajímavou vlastnost tohoto lokusu tvořit specifické sekundární struktury. Ty byly zatím prozkoumány jen u velmi omezeného počtu

hmyzích druhů, ačkoliv se jeví rovněž jako druhově specifické a mohou být inkorporovány do klastrovacích analýz.

Nicole pracovala po celou dobu velice pečlivě a samostatně, a byla i cenným pomocníkem při zaučování nových členů našeho laboratorního týmu. Ve své studii získala řadu originálních dat a poznatků, které jsou dobrým podkladem pro další výzkum. Ačkoliv by se dalo předpokládat, že masařky jsou velmi pohyblivé a pevná populační struktura by byla spíš překvapením, Nicoliny analýzy s použitím COI poukazují na možnost fylogeografického uspořádání, které by i ve forenzní praxi mohlo být významné. Rovněž výsledky ohledně ITS jsou velmi slibné; doposud byl tento marker použit u čeledi Sarcophagidae jen pro druhovou identifikaci metodou PCR-RFLP a jeho sekundární struktura ve fylogenetickém kontextu u čeledi Simuliidae. Nicoliny výsledky však naznačují, že by se v prvním případě dala použít délková variabilita i bez restrikčních enzymů. Fragment ITS1 by pak mohl být použit i pro skrínink variability vnitrodruhové, stejně jako zahrnutí sekundárních struktur do dalších analýz. Předložená studie splňuje požadavky kladené na bakalářské práce, a proto ji k obhajobě

d o p o r u č u j í .

V Českých Budějovicích 16. ledna 2022.

PaedDr. Martina Žurovcová,