



BIOLOGY CENTRE CAS

Institute of Entomology

address: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

IBAN: CZ39 0300 0000 0006 0077 3445 | SWIFT CODE: CEKOCZPP | VAT No.: CZ60077344

phone: +420 387 775 211 | www.entu.cas.cz | e-mail: entu@entu.cas.cz

Posudek školitele

na bakalářskou práci Hany Touškové

Aplikace molekulárních markerů EPIC pro studium genetické variability entomopatogenních hlístic rodu *Steinernema* (*Steinernematidae*)

Předložená práce svým tématem vychází z dlouhodobého výzkumného směru laboratoře entomopatogenních hlístovek ENTÚ BC AV ČR, a to nalezení vhodných markerů u entomopatogenních hlístovek pro nižší taxonomické úrovně. Tyto hlístovky jsou předmětem studia z důvodu jejich využívání jako tzv. biopesticidů, tedy k likvidaci škůdců na hospodářských plodinách. Dosavadní studie se však zaměřují hlavně na jejich ekologii, fyziologii, případně taxonomii na vyšší úrovni, ale práce zabývající se detekcí možných kryptických druhů nebo populační genetikou jsou stále jen sporadické. Je to pravděpodobně zejména z toho důvodu, že hlístovky jsou velmi malé organismy, s nimiž se proto pracuje velmi obtížně – množství DNA získané z jednotlivců je minimální, a opakování experimentů je tedy značně limitováno. Rod *Steinernema* je sice z hlediska molekulární biologie studován; bylo publikováno již 7 genomů a řada transkriptomů, nejsou však dobře zeditovány, takže pro další výzkum tvoří opravdu jen velmi hrubý základ.

V naší laboratoři jsme již vyzkoušeli populární mikrosatelity i sekvenování vytipovaných genů, ale výsledky byly vždy jen dílčí a neaplikovatelné plošně. Hančina práce je tedy opět pilotním projektem se zaměřením na další skupinu markerů – EPIC (exon-primed-intron-crossing). Ačkoliv jsou tyto markery u jiných organismů úspěšně používány již asi dvacet let, u hlístovek ještě aplikovány nebyly. Hanka se do tohoto úkolu pustila s velkým nasazením, i když to vyžadovalo velké množství práce jak s databázemi, tak posléze i časově velmi náročné optimalizace PCR profilů pro jednotlivé markery. Kromě několika standardních genů důležitých pro porovnávání genetické variability tak otestovala 10 markerů EPIC, navržených *de novo* podle údajů z literatury a na základě homologních genů z genových databází. Hanka si tak v průběhu práce osvojila všechny potřebné znalosti i dovednosti, ať už šlo o základní molekulární metody, tak i práci heuristickou s databázemi a následně bioinformatickou i biostatistickou analýzou. Analyzovala celkem soubor 160 jedinců reprezentujících 23 druhů *Steinernematid* a 20 populací *S. affine*, a získala velké množství originálních dat, na kterých bude výzkum dále stavět.

Velkou motivací během projektu byla jistě i skutečnost, že předběžné výsledky zveřejněné na mezinárodní konferenci ve formě posteru a „flash“ prezentace měly velký ohlas. S pokračující prací začíná být zřejmé, že tento typ markerů bude skutečně přínosný – jednak již teď je naznačena možná existence dvou kryptických druhů v rámci skupiny *Steinernema affine*, jednak použití konkatenovaných EPIC markerů jako multilokusových haplotypů rovněž umožňuje zpřesnění

fylogenetických vztahů v rámci celého rodu. I když se zatím nejeví variabilita dostatečná pro populační genetiku, úspěšně získaná data pro rod *Osccheius* svědčí o neméně důležité možnosti použití vybraných EPIC markerů napříč druhy.

Hanka prokázala, že dokáže pracovat pečlivě a samostatně, a podařilo se jí získat velké množství originálních dat, která vytváří solidní základ pro připravovanou publikaci. Předložená studie splňuje požadavky kladené na bakalářské práce, a proto ji k obhajobě **d o p o r u č u j i**.

V Českých Budějovicích 16. května 2023.

PaedDr. Martina Žurovcová, Ph.D.