

Téma DP: Pohlavní rozmnožování u rodu *Geosmithia* a *Aspergillus*

Rod *Geosmithia* zahrnuje přes padesát druhů nepohlavních hub s neznámou teleomorfoou. Nepřítomnost teleomorfy může být následkem ztráty potřebných genů, nepřítomnosti pohlavně kompatibilního partnera (u herothalických druhů), či absence vhodného stimulu (nevhodné podmínky kultivace). Pohlavní systém askomykot je bipolární, kontrolovaný jedním lokusem s dvěma alelami (MAT1, MAT2). Základní poznatky o rozmnožování askomykot a stimulace tvorby pohlavního stádia pocházejí ze studia rodu *Aspergillus*. Zde jsou detailně popsány jednotlivé geny zapojené do tohoto procesu i vhodné kultivační podmínky. Díky tomu byla nalezena teleomorfa k mnoha druhům aspergillů, které byly považovány za výhradně nepohlavní.

Během předešlého studia hub na katedře botaniky byla izolována řada druhů rodu *Geosmithia* a *Aspergillus*. V případě aspergillů se jedná jednak o známé, tak patrně zcela nové druhy s neznámou teleomorfoou, které patří do skupin kde je její tvorba běžná. Teoretickou přípravou na práci je bakalářská práce Z. Dudové „Navození sporulace a tvorby pohlavního stádia u Ascomycota (Fungi)”

Cíle a metodika

1) Identifikovat pohlavní systém u rodu *Geosmithia*. Z předešlého studia víme, že nejméně dva druhy tohoto druhu mají MAT geny. Cílem práce bude amplifikovat MAT1 a MAT2 u všech druhů rodu. Použity budou primery navržené pro příbuzné houby (Clavicipitaceae a Bionectriaceae), které budou optimalizovány a upraveny. Dále mohou být navrženy primery nové z genomické sekvence *G. morbida* či z konzervativních úseků ohraničujících variabilní MAT geny. MAT geny budou přepsány do proteinů, a bude zjištěna „codon usage“, které by měla být výrazně menší u funkčních genů (30-40 vs 50-60 u pseudogenů). Jejich evoluční vztahy budou zjištěny pomocí fylogenetické analýzy. Pomocí primerů bude studováno více jedinců každého druhu.

2) Pokus o nalezení telomorfy rodu *Geosmithia*. Budou vybráni pohlavně komplementární jedinci (u heterothalických druhů), kteří jsou zároveň geneticky příbuzní (zjištěno pomocí ISSR PCR). Tyto jedinci budou spolu kultivováni na polopřirozených médiích (lýko a kůrovci) za různých kultivačních podmínek (teplota, osvětlení) po dlouhou dobu. Je nutno říci, že výsledek této části je nejistý a ostatní dva cíle můžou zcela postačit k naplnění DP.

3) Teloomorfy vybraných druhů rodu *Aspergillus*.

Během předchozích studií byla izolována řada druhů *Aspergillus*, včetně druhů nových, u kterých se očekává přítomnost teleomorfního stádia. Pomocí známých primerů bude charakterizováno pohlavní ladění jednotlivých jedinců, kteří budou dále kříženi pro získání teleomorfy. Bude popsána morfologie nalezených teleomorf (optická mikroskopie, SEM).

Metodický přínos pro studenta: Cílem je získat metodickou průpravu v mnoha biologických postupech. Student bude udržovat a kultivovat kmeny, mikroskopovat, naučí se pracovat s DNA, používat a optimalizovat metodu PCR, navrhovat primery. K vyhodnocování výsledků bude použita řada statistických metod. Práce bude probíhat na katedře botaniky a MBÚ AV ČR.

Výstup. Práce je zahrnuta do projektů studujících rod *Geosmithia* (M. Kolařík) a *Aspergillus* (V. Hubka). V rámci těchto projektů budou publikovány nalezené výsledky. Práce je značně originální, protože u rodu *Geosmithia* chybí jakékoliv podobné údaje. U rodu *Aspergillus* bude mít nalezení pohlavních struktur významné taxonomické následky, umožní popisy nových druhů.

Financování: Výzkumný záměr MŠMT 0021620828: Ekologické procesy v evoluci modelových skupin organismů. Grant GAUK: Rod *Geosmithia* (Ascomycota: Hypocreales) jako model pro studium

evoluční ekologie hub asociovaných s podkorním hmyzem. Grant GAČR P506/11/0988 Evolutionary ecology, taxonomy and secondary metabolites of the genus *Geosmithia*.

Základní literatura. EAGLE, C. E. (2009): Mating-type genes and sexual potential in the Ascomycete genera *Aspergillus* and *Penicillium*, University of Nottingham, Ph.D. thesis, pp. 383.