



Hodnocení školitele

Physical map of the wheat chromosome 4AL and positional cloning of a gene for yield Disertační práce

Mgr. Barbory Balcárkové

Disertační práce Mgr. Balcárkové (za svobodna Klocové) je po formální i obsahové stránce na vysoké úrovni. Hlavní část práce tvoří literární přehled a soubor čtyř publikací publikovaných v mezinárodních časopisech s vysokým impakt faktorem. Literární přehled představuje rozsáhlý úvod do problematiky a zahrnuje pokročilé metody konstrukce fyzických map velkých a komplexních genomů. Dále jsou podrobně popsány možnosti ukotvení fyzických map na genomy s použitím genetických map a virtuálního pořadí genů tzv. GenomeZipper. V poslední části se autorka věnovala využití ukotvených fyzických map pro klonování agronomicky důležitých genů u rostlin.

Experimentální práci, jejíž výsledky předkládá disertační práce shrnuje, uskutečnila Mgr. Barbora Balcárková v letech 2010 až 2016 v Laboratoři molekulární cytogenetiky a cytometrie a v Centru strukturní a funkční genomiky rostlin Ústavu experimentální botaniky AV ČR v Olomouci v rámci doktorského studijního programu P1527 Biologie, studijní obor Botanika na PřF UP v Olomouci. Experimentální práce zahrnovala tři okruhy. Cílem prvního z nich byla konstrukce fyzické mapy pro pšeničný chromosom 4A. Za tímto účelem Mgr. Balcárková otestovala dostupné algoritmy pro assembly fyzických map a vybrala LTC program jako nejefektivnější. Pomocí tohoto programu a jeho nejnovějšího nástroje pro extenzi a spojování BAC kontigů byla schopna konstrukce fyzické mapy pro obě ramena chromosomu 4A s vynikajícími parametry.

Druhý okruh experimentů byl zaměřen na konstrukci radiační hybridní mapy pšeničného chromosomu 4A ověřenou pomocí deleční mapy. Obě mapovací populace jak pro radiační mapu tak pro deleční mapu byly genotypovány pomocí SNP čipu s 90 tis. Markery na Illumina Infinium platformě, avšak pro analýzu dat u radiačních panelů neexistoval optimální algoritmus. Studentka úspěšně zvládla vývoj postupu pro analýzu markerů a konstrukci, do této doby nejhustší mapy chromosomu 4A s nevšedně velkým rozlišením v centromerické oblasti chromosomu. Deleční mapa byla použita pro verifikaci radiační mapy opravy nepřesností v předešlých mapách. Radiační mapa 4A GenomeZipper byly použity k ukotvení 4A fyzické mapy na chromosom a 88.4 % kontigů krátkého a 73.5 % kontigů dlouhého ramene byly ukotveny. Zbývající kontigy byly ukotveny alespoň na takzvanou „survey“ sekvenci tohoto chromosomu.

Poslední série experimentů byla zaměřena na praktickou aplikaci konstruované fyzické mapy pro saturaci lokusů klonovaných genů a jejich identifikaci. Mapy byla použita na saturaci regionu genu transponovaného do pšenice z *T. militinae* odpovědného za zvýšenou odolnost vůči padlí pšenice po celou



dobu vegetace. Použití 4A specifické fyzické mapy umožnilo zúžit oblast genu na 0,02 cM a překlenout tuto oblast v citlivém rodiči, kultivaru Chinese Spring. Dalším genem klonovaným pomocí této mapy byl gen rezistence předčasného klíčení pšeničných zrn v klasu tzv. „harvest sprouting“ gen (*Phs-A1*). Kde se pomocí fyzické mapy podařilo lokus tohoto genu saturovat markery, následně BAC klony a identifikovat kandidátní geny. U genu rezistence ke rzi *Yr51* se pomocí 4A fyzické mapy povedlo lokus tohoto genu saturovat molekulárními markery a zúžit region tohoto genu na 3,7 cM. Hraniční markery jsou využívány ve šlechtění. U genu *Qyie-4A-bga* ovlivňujícího výnos byl region tohoto genu pomocí 4A fyzické mapy zúžen z původních 30 cM na 0,5 cM.

Po celou dobu studia přistupovala Mgr. Balcárková k řešení úkolů této náročné disertační práce odpovědně a systematicky. Závěrem rád konstatuji, že Mgr. Barbora Balcárková prokázala schopnost samostatně řešit problémy současné botaniky a genetiky a její disertační práci doporučuji k obhajobě.

V Olomouci, 13. Března 2017

Mgr. Miroslav Valárik, Ph.D.