

Posudek disertační práce Veroniky Burešové „Study of organization of hybrid and polyploid genomes“

Předložená disertační práce Veroniky Burešové je kumulativního charakteru, obsahuje úvodní literární rešerši (35 stran), cíle práce na šesti řádcích (sic!), závěr ve třech krátkých odstavcích a čtyři přiložené publikace doktorandky. Jedna publikace je prvoautorská. Čtyři práce, které jsou podstatou disertace, byly publikovány v impaktovaných časopisech s dobrým impaktem (*Plant J*, *Theor Appl Genet*, *Sci Reports*).

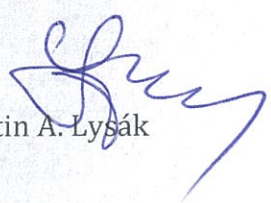
Úvodní teoretický přehled je dobře koncipován, ale jen v omezené šíři osvědčuje širší odborný rozhled doktorandky. Tato část disertace je pečlivě připravena, tedy bez zbytečných překlepů a podobných nešvarů, a je napsána dobrou angličtinou. Domnívám se nicméně, že když už závěry práce zabírají v podstatě jen jedinou stránku, úvodní část by mohla být obsáhlejší a lépe osvědčující autorčinu znalost problematiky. Po obsahové stránce je úvodní část bohužel nevyvážená. Po opakovaném přečtení působí fragmentárním dojmem, a to díky tomu, že některé aspekty jsou příliš akcentovány (introgression breeding, str. 35-39) a jiné naopak úplně chybí. Byl jsem překvapen zjištěním, že ačkoliv se doktorandka zabývala tříděním chromosomů průtokovou cytometrií, v práci není zmínka např. o procesech zodpovědných za rozdílný počet chromosomů a jejich (ne)rozdílnou velikost (např. přestavby chromosomů, bimodální karyotypy, strukturální genomová diploidizace následující po celogenomových duplikacích - kukuřice, válečka - když zůstaneme u trav). V závěrečné části jsem postrádal jakoukoliv zmínku o oligo-paintingu, FISH na DNA vláknech, "natahování chromosomů" pomocí průtokové cytometrie (a to taktně přehlížím fakt, že některé z těchto technik jsou spojeny s pracovištěm doktorandky). Když je diskutována organizace chromosomů v interfázi a obecně malování chromosomů (chromosome painting), nechápu absenci relevantních prací na válečkách (*Brachypodium*) - pravda, není to tribus Triticeae. Autorka zjevně nepochopila podstatu BAC FISH či malování chromosomů pomocí BAC kontigů, protože by na str. 46 nemohla tvrdit, že tyto přístupy poskytují rozlišení srovnatelné s CISS (chromosomal in situ suppression). V tomto výčtu by se samozřejmě dalo pokračovat, ale nemá to většího smyslu. Samozřejmě chápu dobře, že některé, zvláště metodické záležitosti jsou zmíněny v jednom z předložených článků (Doležel et al. 2014), nicméně je možné zjistit co přesně v této publikaci napsala Veronika sama?

Za nejproblematictější pokládám dvě části disertační práce. V první řadě jsou to strohé cíle práce (str. 67). Čtenáři naprosto uniká jak byly tyto cíle stanoveny a proč bylo podstatné je řešit. Tuto výtku nelze odbýt konstatováním, že je to uvedeno v příložených publikacích. Podobně stručné jsou závěry. Z formulace druhého ze závěrů je pouze zřejmé, že metoda FISHIS byla aplikována při třídění chromosomů u několika druhů trav. Jednoduše chybí diskuse, porovnání, problémy, interpretace, výzvy apod. Možná by práce měla obsahovat diskusní část, a možná by taková část měla být obligátní součástí disertačních prací. Z předložené disertace si oponent může udělat jen mlhavý obrázek o vědeckém potenciálu uchazečky, zvláště když všechny předložené práce jsou kolektivního charakteru. Není také zcela zřejmé jakým dílem se Veronika podílela na vzniklých publikacích. Je zřejmé, že výše uvedené výtky nepadají zcela na hlavu autorky. Práce je jen odrazem obecnějšího a převládajícího trendu formy doktorských disertací v našich zemích. Domnívám se, že základním problémem je špatné pochopení termínu "kumulativní disertace", a to zejména v případech kdy doktorand nepředkládá převážně prvoautorské práce a/nebo není korespondujícím autorem.

První z cílů disertační práce byl splněn publikací v časopise TAG. Autorka a její spolupracovníci úspěšně charakterizovali introgresní linie pšenice s tvorbou modrého aleuronu. Tato studie je určitě nejucelenější dosud publikovanou prací na toto téma. Druhým cílem disertace byla optimalizace a využití metody FISHIS (fluorescenční značení chromosomů v suspenzi) při cytometrickém třídění chromosomů u druhů z tribu Triticeae. Tuto techniku doktorandka a její spolupracovníci použili pro diferenciaci a následnou separaci chromosomů pšenice *Triticum dicoccoides* a několika druhů rodu mnohoštět (*Aegilops*). Ačkoliv využití přístupu FISHIS v těchto studiích bylo klíčové, ani v jedné z publikací není popsána optimalizace metody (v rozporu s cílem disertace). O to víc zaráží absence rozsáhlejšího závěru a diskuse alespoň k tomuto cíli práce. Takto obě práce navozují dojem, že doktorandka pouze aplikovala již etablovanou metodiku. Možná by tyto optimalizace mohly být diskutovány v rámci obhajoby disertační práce.

Domnívám se, že v prvoautorské publikaci a částečně v dalších předložených pracích prokázala Veronika Burešová schopnost tvůrčí vědecké práce. Předložená disertační práce, i přes kritické výtky, splňuje požadavky kladené na disertační práci v daném oboru.

Z těchto důvodů disertační práci doporučuji k obhajobě.


Martin A. Lysák

V Brně, 20.2.2017

Martin A. LysákStředoevropský technologický institut (CEITEC)
Masarykova univerzita
Kamenice 5
Brno 625 00

Tel. 549 494 154

E-mail martin.lysak@ceitec.muni.cz



BIOLOGY CENTRE ASCR

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

IBAN – CZ22 0710 0000 0000 0552 7231 | SWIFT CODE – CNBACZPP | VAT No.: CZ60077344

phone: +420 387 771 111 (telephone exchange) | www.bc.cas.cz | e-mail: bc@bc.cas.cz

Oponentský posudek na disertační práci Veroniky Burešové

Předložená disertační práce s názvem „**Study of organization of hybrid and polyploid genomes**“ byla zaměřena na studium genomů obilovin a příbuzných druhů. Konkrétní cíle vytyčené pro tuto disertační práci zahrnovaly 1) analýzu genomu introgresních linií pšenice a pýru pontického s modrým aleuronem a 2) optimalizaci metody FISHIS pro průtokovou cytometrii vybraných rodů kmene *Triticeae* (*Triticum*, *Aegilops*).

Práce je napsaná v anglickém jazyce a celkově působí velmi dobrým dojmem. Literární přehled (41 stran), ve kterém je citováno celkem 249 prací, je zpracován velmi podrobně a srozumitelně. K některým tvrzením mám sice výhrady (viz níže), ale celková úroveň úvodu bezpochyby svědčí o dobré orientaci doktorandky v dané problematice.

Výsledky jsou popsány a zasazeny do širšího kontextu ve čtyřech vědeckých článcích publikovaných v impaktovaných časopisech (Theoretical and Applied Genetics, IF: 3,9; Biotechnology Advances, IF: 9,848; Scientific Reports, IF: 5,228; Plant Journal, IF: 5,468). U jedné z těchto prací je doktorandka uvedena jako hlavní autor, u ostatních je spoluautor. Kromě toho autorka průběžně prezentovala své výsledky formou plakátových sdělení a přednášek na několika vědeckých konferencích. K výsledkům a jejich prezentaci nemám žádné výhrady, ostatně všechny čtyři články byly publikované v prestižních vědeckých časopisech, kde musely projít přísným recenzním řízením. Jen pro úplnost by bylo možná vhodné, kdyby doktorandka během obhajoby blíže specifikovala svůj podíl na jednotlivých publikacích.

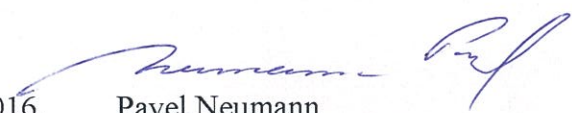
Disertační práci V. Burešové hodnotím jako vynikající a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě. Nicméně, mám několik komentářů a otázek:

1. Str. 17, Obrázek 3: Schéma distribuce repetitivních sekvencí. Obecně nemám tyto modely rád, protože jsou téměř nevyhnutelně více či méně zavádějící. Na tomto konkrétním modelu mne zaujal poměr mezi rozptýlenými repeticemi a tandemovými repeticemi, přičemž většina

DNA na raménkách chromozómu je podle tohoto modelu tvořena tandemovými repeticemi. Je autorce znám nějaký konkrétní druh, který by vykazoval podobnou distribuci těchto dvou typů repetitivních sekvencí?

2. Str. 18, odst. 2. Přestože je rozdělení tandemových repetit pouze podle délky monomeru hojně používané, není úplně přesné. Zcela jistě může existovat satelit s monomerem kratším než 26 bp a naopak minisatelit s monomerem delším než 25 bp. Víte jaký je nejpodstatnější rozdíl mezi minisatelity a satelity? Také by mne zajímalo, z jakého pramene pochází informace, že bloky mikrosatelitů jsou dlouhé okolo 150 bp.
3. Str. 22, řádky 4-5. Tvrzení, že demethylace H3K9me2 umlčuje transkripci genů, není pravda. Předpokládám, že se jedná jen o překlep.
4. Str. 28, poslední věta. Tvrzení, že většina genů se nachází v chromocentrech tvořených centromérickým heterochromatinem je chybné a celá věta by měla být přeformulována.
5. Str. 46, odst. 2. V textu se píše, že metoda PRINS je oproti FISH více specifická a o kus dále, že nevýhodou PRINS je relativně vysoké pozadí. Bez uvedení dalších faktorů ovlivňujících výsledky těchto dvou cytogenetických technik jsou tyto informace poněkud matoucí.
6. Introgresní linie pšenice a pýru pontického s modrým aleuronem vykazují výrazně vyšší hladinu antokyanů v porovnání s běžnými odrůdami pšenice. V jedné z publikací se uvádí, že obsah antokyanů u některých druhů rostlin, např. v borůvkách, může dosahovat až 5 g v 1 kg. Možná jsem jen nepozorný čtenář, ale nikde jsem nenašel informaci o obsahu této látky u pšenice s modrým aleuronem. Jako naprostého laika by mne také zajímalo zda se antokyany neničí při pekařském či kuchyňském zpracování mouky.

V Českých Budějovicích, dne 14. února 2016.



Pavel Neumann

V Olomouci, 14. 2. 2017

Věc: Oponentský posudek doktorské práce

Název práce: Study of organization of hybrid and polyploid genomes

Autorka: Mgr. Veronika Burešová

Předložená doktorská práce je psána dle používaného modelu pro tyto práce, tedy obsahuje kapitoly Úvod, Literární přehled, Výsledky, jež jsou tvořeny vydanými publikacemi autorky, konkrétněji uvedenými v přílohách práce, a Závěr. Stěžejní čtyři publikace, které byly do doktorské práce zahrnuty, jsou impaktované. V jedné z těchto publikací je V. Burešová uvedena jako první autorka, v dalších publikacích jako spoluautorka. Jedná práce je review. Další uvedené neimpaktované publikace jsou abstrakty. Studentka V. Burešová tak mimo jiné doložila i splnění požadavků doktorského studia pro umožnění obhajoby své práce.

Dle názvu práce by čtenář očekával obecněji řešenou problematiku organizace genomu rostlin včetně většího množství získaných dat, které by vedly k dalšímu poznání a pochopení prostorového a funkčního uspořádání genomu v interfázním buněčném jádře. K tomuto tématu se autorka vyjadřovala z větší části v kapitole Literární přehled. Ovšem výsledky práce V. Burešové již nemají takové obecnější pokrytí problematiky. Autorka práce totiž dále specifikovala svoje pole bádání a to konkrétně na analýzu introgresních linií pšenice s *Thinopyrum ponticum* a optimalizaci metody FISHIS. Obě témata jsou popsána, řešena a výsledky výzkumu představeny a diskutovány v příložených impaktovaných publikacích. Zvládnutí těchto úkolů a jejich opublikování svědčí o vynikající tvůrčí a vědecké práci studentky.

Bohužel takový typ předložené práce, tedy práce složené z vydaných publikací, musí umět tyto publikace propojit a vysvětlit čtenáři dostatečně smysl představovaného výzkumu a v závěru zobecnit získané a opublikované výsledky. Z tohoto pohledu je tento typ prací velmi obtížný. Autorka práce sepsala velice kvalitní literární přehled, ale dle mého mínění dostatečně nevyužila závěru práce k objasnění smyslu práce, přispění k problematice organizace hybridních a polyploidních genomů a zasazení svých výsledků do obecného rámce organizace genomu rostlin.

Avšak i přes tuto výtku shledávám práci jako dostatečně kvalitní a doporučuji ji k obhajobě.

K práci mám několik dotazů:

1. Na straně 81 je uveden abstrakt týkající se studia organizace genomu resp. organizace buněčného jádra u mezidruhových hybridů pomocí 3D FISH metody. Výsledky jsou zde uváděny jako předběžné, ovšem i vzhledem k názvu práce by bylo dobré se o nich více zmínit. Mohla by tedy studentka V. Burešová blíže popsat získané výsledky a v jakém stádiu se výzkum v této oblasti nachází?

2. Organizace interfázního buněčného jádra je zajímavá i z pohledu rozdílů mezi uspořádáním jádra živočichů včetně člověka a uspořádáním buněčného jádra rostlin. U živočichů hraje důležitou roli v organizaci jádra i jaderná periferie včetně laminy a různých proteinových komplexů umístěných u či v jaderných membránách. Může autorka práce srovnat organizaci jaderné periferie mezi živočichy a rostlinami?

S pozdravem,

Vladan Ondřej



doc. RNDr. Vladan Ondřej, Ph.D.
vedoucí katedry botaniky
PřF UP Olomouc