

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci

Název práce: **Genome analysis in selected representatives of *Poaceae***

Autor: **Mgr. Jana Zwyrtková**

Oponent: doc. Dr. Ing. Pavel Vejl
Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra genetiky a šlechtění

Posuzovaná disertační práce představuje již při zběžném pohledu velice kvalitní molekulárně genetickou studii rostlin čeledi *Poaceae*. Přestože práce má dle mého názoru charakter základního genetického výzkumu, mohu konstatovat, že nové poznatky doktorandky mají velký potenciál i v aplikované sféře šlechtění pšenice. Doktorská disertační práce propojující výsledky molekulárních, genomických a cytologických technik má celkový rozsah 88 stran. Další stránky práce pak představují samostatné přílohy. Práce je psána v anglickém jazyce a představuje komentované publikační výstupy doktorandky. Konkrétně se jedná o dvě vědecké publikace v prestižních časopisech (BMC Plant Biology – IF 3,497 a Biotechnology Advances – IF 10,744). U obou publikací je doktorandka prvním autorem. Doktorská práce v sobě zahrnuje rovněž dva abstrakty z mezinárodních konferencí. Zde je doktorandka první respektive druhou autorkou. Výše zmíněné publikační výstupy jsou v plném znění součástí příloh doktorské disertační práce. Přestože má disertační práce charakter svázaných publikačních výstupů, musím kladně hodnotit způsob, jakým doktorandka tyto práce dokázala propojit a současně okomentovat. Ke srozumitelnosti náročného tématu jistě přispěla úvodní kapitola zaměřená na literární přehled, shrnutí získaných výsledků a kapitola odpovídajícím získaným závěrům. V práci jsou zcela samozřejmě uvedeny i vědecké hypotézy a cíle. Vlastní textové části doktorské práce jsou psány velice srozumitelnou a jasnou formou. Totéž platí i o sěžejních publikačních výstupech doktorandky, které byly zcela jistě podrobeny velice přísnému recenznímu řízení, a to jak po stránce odborné, tak i po stránce jazykové. Osobně považuji tento způsob zpracování doktorské disertační práce za vzorový, jelikož doktorandka zvládla nejen zrealizovat náročné experimenty, ale získané výsledky dokázala prezentovat a uplatnit v podobě excelentních publikací. Recenzenti výše uvedených časopisů zcela jistě velice přísně a zodpovědně posoudili kvalitu publikací. Proto již v úvodu oponentského posudku mohu i já vyslovit jednoznačné kladné hodnocení celé práce.

AKTUÁLNOST ZVOLENÉHO TÉMATU

Aktuálnost zvoleného tématu vychází ze zkoumané botanické čeledi – *Poaceae*. Do této čeledi patří samozřejmě jedna z nejstarších a nejdůležitějších zemědělských plodin – hexaploidní pšenice obecná (*Triticum aestivum* L.), ale i řadě planě rostoucích botanických druhů s potenciálem introgrese jejich genů do pšeničného genu v rámci praktického šlechtění. Vzhledem k významu pšenice ve výživě lidské populace je možné konstatovat, že jakékoliv výsledky základního i aplikovaného genetického výzkumu umožňující zvýšit intenzitu šlechtitelského procesu, budou vždy velice aktuální a důležité. Toto obecné tvrzení jednoznačně platí i pro cíle oponované doktorské disertační práce. Hodnocení struktury genomů u rostlin rodu *Triticum*, *Festuca* a *Lolium* pomocí cytologických metod i pomocí technik sekvenací nové generace považují jednoznačně za ukazatele vysoké aktuálnosti tématu.

ZPRACOVÁNÍ LITERÁRNÍHO PŘEHLEDU

Doktorská práce je postavena na čtyřech publikačních výstupech doktorandky. Každý prezentovaný vědecký článek má zpracovaný vlastní literární úvod do problematiky. Přesto doktorandka výborně zpracovala ucelený literární přehled, který čtenáře velice dobře uvede do problematiky současné genomiky a cytogenetiky čeledi *Poacea*. Úroveň zpracování literárního přehledu svědčí o výborném přehledu doktorandky nejen v oblastech molekulární genetiky, cytologie a fylogeneze čeledi *Poaceae*, ale i v aktuálních metodách a postupech umožňujících získat a vyhodnotit řadu bioinformatických dat. V literárním úvodu jsou podány informace u čeledi *Poaceae* z hlediska zemědělství, o přenosu genů z planých druhů do genomu pšenice, o genetické a cytologické charakterizace vybraných druhů trav, o organizaci genomu rostlin včetně původu repetitivních sekvencí. Výborně jsou zpracovány rovněž pasáže zaměřené na strategie sekvenování genomů, na hodnocení redukce komplexity genomu, na třídění chromozómů pomocí průtokové cytometrie a na vývoj různých typů molekulárních markerů. V práci je citováno 247 literárních pramenů, které jsou z naprosté většiny velice aktuální. Jedná se výhradně o citace původních zahraničních prací, které byly publikovány ve významných vědeckých časopisech.

STANOVENÉ CÍLE A JEJICH REALIZACE

V úvodu disertační práce si doktorandka vytýčila tři základní cíle, které umožní odpovědět na vědecké hypotézy. Prvním cílem práce bylo provedení komparativní analýzy zaměřené na identifikaci repetitivních a centromerických elementů u rodů *Festuca* a *Lolium*. Druhým cílem byla studie organizace genomu u planého botanického druhu *Agropyron cristatum* a vývoj mikrosatelitních markerů umožňujících lokalizovat mezidruhově hybridy *Agropyron cristatum* x *Triticum eastivum*. Poslední cíl práce byl zaměřen na metody třídění chromozómů a jejich využití molekulární biologii a genomice. Všechny cíle dle mého názoru vycházejí z aktuálních trendů

rostlinné genomiky. Považuji je za velice dobře postulované. Splnění cílů považuji za velice náročné, a to jak z hlediska nezbytných odborných znalostí, tak i z pohledu nezbytných genetických analytických metod. Přesto mohu jednoznačně konstatovat, že cíle byly splněny.

POUŽITÉ METODICKÉ POSTUPY

Již v předchozích pasážích posudku jsem kladně hodnotil přehled doktorandky o moderních metodách genetického výzkumu. Přesné, ale současně velice náročné metody jsem zmiňoval v cílech práce. Na tomto místě bych jednou rád vyzdvihнул jedinečné přístrojové vybavení a zejména zkušenosti s jeho aplikací na školícím pracovišti Centra strukturní a funkční genomiky rostlin Ústavu experimentální botaniky České akademie věd v Olomouci. Domnívám se, že doktorandka použila metody, jež je možné považovat za špičkové z celosvětového pohledu. Jako příklad mohu uvést různé strategie sekvenací nových generací, hodnocení ploidie, cytogenetické analýzy, analýzy jednotlivých chromozómů nebo vývoj nových molekulárních markerů. Doktorandka získala nejen vstupní data, ale dokázala je následně i zpracovat pomocí různých nástrojů bioinformatiky a biostatistiky. Příložené publikační výstupy jsou jednoznačným důkazem aktuálnosti použitých metodických postupů.

VÝSLEDKY DISERTAČNÍ PRÁCE A JEJICH DISKUSE

Výsledkem disertační práce jsou dvě vynikající vědecké práce. Skutečnost, že doktorandka dokázala výsledky své práce úspěšně obhájit v rámci recenzních řízení, jsou jasným důkazem o výborné vědecké kvalitě hodnocené doktorské disertační práce. Doktorandka vyhodnotila organizaci repetitivních sekvencí DNA v genomech rodů *Festuca* a *Lolium*. U stejných rodů identifikovala nové centromerické elementy. Provedla charakteristiku nalezených retrotranspozónů. Autorce disertační práce se podařilo vyvinout chromozómově specifické markery botanického druhu *Agropyron cristatum*. 72 SSR markerů pak bylo možno aplikovat při charakterizaci introgrese genomu *Agropyron cristatum* do genomu pšenice. Tato analýza byla založena na třídění chromozómů a následně NGS sekvenaci. Hexploidní pšenice patří mezi botanické druhy s velkým genomem. Z tohoto pohledu se jedná modelový druh, který je náročný na molekulární analýzy. Doktorandka proto navrhla kombinace metod třídění chromozómů a s následnou molekulární analýzou. Doktorandka úspěšně aplikovala techniky fyzického mapování, klonování genů a sekvenování na chromozómové úrovni.

VÝZNAM VÝSLEDKŮ PREZENTOVANÝCH V DISERTAČNÍ PRÁCI PRO DALŠÍ ROZVOJ VĚDY A PRO APLIKOVANOU GENETIKU A ŠLECHTĚNÍ

V oponované disertační práci jsou předloženy výsledky, které významně prohlubují informace o organizaci genomu vybraných druhů čeledi *Poaceae*. Za významnou považují charakterizaci transponovatelných elementů. Z pohledu šlechtitelského kladně hodnotím navržení a validaci mikrosatelitních markerů, které umožní hodnotit introgresi genomu *Agropyron cristatum* v genomu pšenice obecné. Tyto markery budou účinným nástrojem zejména při zpětném křížení mezidruhových hybridů. Za významný považují přístup doktorandky, kdy dokázala propojit molekulárně genetické, cytogenetické a bioinformatické přístupy v ucelenou vědeckou práci.

DOTAZY PRO VĚDECKOU ROZPRÁVU

Níže uvedené dotazy považuji jako podklad pro vědeckou rozpravu, nikoli jako výtky či připomínky k oponované práci. Doktorandce bych rád položil následující dotazy:

- *Mezidruhová hybridizace vede ke vzniku generace, kde řada hospodářsky významných vlastností nedosahuje parametrů kladeným na danou plodinu. Nezbytné jsou následné generace zpětných křížení, ve kterých dochází k selekci. Pokuste se prosím charakterizovat šlechtitelsky významné vlastnosti respektive geny, které by bylo možné přenést z *Agropyron cristatum* do genomu pšenice obecné. Jaké vlastnosti těchto mezidruhových hybridů jsou naopak pro šlechtitele nežádoucí?*
- *V disertační práci se věnujete problematice transponovatelných elementů u čeledi Poacea. Jsou známy některé vlastnosti pšenice či jiných obilovin, jejichž fenotypová variabilita je vysvětlována existencí transponovatelných elementů?*
- *V disertační práci se věnujete navrhování markerů. Metody molekulární biologie umožňují v současnosti navrhovat širokou škálu markerů – od hodnocení cytologických změn, přes detekce SNP funkčních genů či regulačních oblastí, QTL markery či markery hodnotící expresi genů. Pokuste se prosím charakterizovat markery, které budou zvládat aplikovat šlechtitelé přímo ve svých laboratořích. Můžete prosím uvést příklady markerů, které se používaly v minulosti, a které jsou aplikované v současném šlechtění pšenice v České republice.*

ZÁVĚREČNÉ HODNOCENÍ

Z předchozích částí mého oponentského posudku vyplývá, že doktorskou disertační práci paní Mgr. Jany Zwyrtkové hodnotím po všech stránkách jako výbornou. Doktorandka zvládla splnit všechny náročné cíle. Jednoznačně prokázala, že je schopna samostatně vědecky pracovat, analyzovat získané výsledky a diskutovat s výsledky ostatních autorů. Všechny tyto schopnosti doktorandka dokázala využít při přípravě prestižních vědeckých publikací.

Bez výhrad proto **doporučuji**, aby práce byla přijata k obhajobě, a na základě úspěšné obhajoby doporučuji udělit Mgr. Janě Zwyrtkové akademicko-vědecký titul doktor (Ph.D.).

Praha, 14. dubna 2021



doc. Dr. Ing. Pavel Vejl