



KATEDRA CHÉMIE
FAKULTY PRÍRODNÝCH VIED
UNIVERZITA KONŠTANTÍNA FILOZOFA V NITRE
Tr. A. Hlinku 1, 949 74 Nitra

**OPONENTSKÝ POSUDOK NA HABILITAČNÚ PRÁCU S NÁZVOM
„Molekulárna charakteristika vybraných druhov obilnín z hľadiska genetickej
diverzity“**

Habilitant: **Mgr. Želmíra Balážová, PhD.**
Katedra biochémie a biotechnológie, FBP SPU v Nitre

Oponent: **prof. RNDr. Klaudia Jomová, PhD.**
Katedra chémie, FPV UKF v Nitre

Nárast molekulových markerov rastlín a ich využitie pri detekcii DNA polymorfizmu je jeden z najvýznamnejších prínosov v oblasti molekulovej genetiky rastlín. Molekulové markery sa stávajú výkonnými nástrojmi na identifikáciu genotypov, posudzovanie genetickej variability, objasňovanie genetických vzťahov, ako aj štruktúry a organizácie genómu. Ich úloha narastá aj v súvislosti so zvyšovaním genetickej uniformity odrôd v dôsledku šľachtenia, kedy sú štandardné morfológické markery na identifikáciu už nepostačujúce.

Hoci dnes existuje množstvo molekulových techník s rozdielnymi princípmi a metodológiami, výber techniky je potrebné starostlivo zvážiť, aby získaný molekulový marker spĺňal požiadavky kladené na marker a aby výsledky analýz boli spoľahlivé. Prudký nárast molekulových markerov rastlín nastal nástupom techniky PCR (polymerázovej reťazovej reakcie), ktorá predstavuje pomerne nenáročný spôsob získavania DNA markerov. Modifikované PCR techniky boli využité aj v predkladanej práci pri analýze hospodársky významných obilnín. Preto hodnotím tému habilitačnej práce ako vysoko aktuálnu.

Predložená habilitačná práca je v súlade s doterajším vedeckým zameraním habilitantky. Mgr. Želmíra Balážová, PhD. začala svoju vedeckú kariéru v danej oblasti na vtedajšom Výskumnom ústave rastlinnej výroby v Piešťanoch a ďalej úspešne pokračovala na svojom materskom pracovisku. Rada by som zdôraznila, že práve vďaka veľkej angažovanosti habilitantky sa na tomto pracovisku rozšírili molekulové analýzy hospodársky významných plodín o analýzy DNA technikami PCR.

Predložená práca s názvom „Molekulárna charakteristika vybraných druhov obilnín z hľadiska genetickej diverzity“ je zameraná na identifikáciu vybraných genotypov obilnín, konkrétne pšenice letnej, raže siatej, tritikale, ovsu siateho a kukurice siatej, pomocou molekulových DNA markerov, polymorfizmus ktorých využíva autorka na určenie vzájomných genetických vzťahov. V práci je prezentovaná časť vedeckých výsledkov habilitantky počas jej doterajšej činnosti.

Práca je napísaná na 127 stranách a jej súčasťou je tiež deväť strán príloh, v ktorých sú zoznamy genotypov s krajinami pôvodu (A - F) a ilustračné elektroforeogramy (G - I). Text práce je doplnený dvanástimi obrázkami a dvadsiatimi ôsmimi tabuľkami. Má klasickú štruktúru vedeckého spisu.

V časti „Súčasný stav riešenej problematiky“ sa autorka venuje všeobecnej charakteristike obilnín, ktoré sú predmetom štúdia a technikám, ktoré boli na jednotlivé analýzy použité. Citované práce (celkovo 170) demonštrujú výbornú orientáciu habilitantky v danej oblasti. *K tejto časti mám na autorku otázku, prečo pri tabuľkách 1.1 (s. 28) a 1.2 (s. 29) neuvádza zdroje, odkiaľ boli tabuľky prevzaté?*

Ciele práce sú prehľadne definované.

V metodickej časti habilitačnej práce je uvedený izolačný postup a purifikácia DNA z rastlín, zoznamy použitých primerov / primerových párov s ich sekvenciami a anelačnými teplotami s odvolaním sa na zdroje, z ktorých boli čerpané časové a teplotné profily pre jednotlivé PCR techniky. Pri mikrosatelitných primeroch autorka doplnila aj mikrosatelitné motívy a príslušný lokus na chromozóme. *Na autorku mám otázku, aký dĺžkový marker bol použitý pri agarózovej elektroforéze (na s. 46 nie je uvedený)?*

V tejto časti práce je zakomponovaný popis spôsobov vizualizácie PCR produktov a štatistické analýzy získaných dát. Dovolila by som si pripomenúť, že význam štatistických parametrov ako sú DI, PI a PIC mal byť vysvetlený v tejto časti práce a autorka by sa tak vyhla opakovanému popisu týchto kvantifikátorov polymorfizmu pri každej technike a každom analyzovanom genotype (vyznačené v texte práce). Podobne je zbytočne opakovane vysvetľovaný princíp konštrukcie dendrogramov.

Z časti „Výsledky a diskusia práce“ je zrejmé, že Mgr. Želmíre Balážovej, PhD. sa podarilo získať originálne výsledky, ktoré sú diskutované s inými autormi. Z výstupov prác vychádzajú odporúčania, ktorá technika a ktoré typy primerov sa osvedčili pre získanie polymorfických markerov nevyhnutných pre identifikáciu a hodnotenie genetickej diverzity analyzovaných rastlín. *K tejto časti mám na habilitantku otázku, prečo volila rozdelenie podkapitol 4.1 až 4.8 na ďalšie podkapitoly? Výsledky uvádzané v týchto podkapitolách vzájomne súvisia a práve si žiadajú, aby boli uvedené spolu (počty alel, hodnoty DI, PI, PIC a klastrovanie). Týmto rozdelením sa v práci vyskytli duplicita až triplicita identické odkazy na literárne zdroje, často s identicky formulovaným opakovaným textom (vyznačené v práci na viacerých miestach).*

Práca je ukončená jasne sformulovanými závermi, ktorými autorka dokumentuje ich prínos pre rozvoj molekulovej biológie rastlín a prax. Celkovo predložená habilitačná práca spĺňa svoje ciele v plnom rozsahu.

Habilitačná práca je napísaná v prevažnej časti prehľadne, vyskytuje sa v nej však pomerne veľa formálnych chýb, preklepov a formulácií viet, ktoré sú vyznačené priamo v texte a z nich uvádzam len niektoré:

- nejednotná terminológia, napr. proteíny/bielkoviny (s. 17), polymorfný/polymorfický (s. 33, 48 a ďalšie), nesprávne termín „imbred“ miesto „inbred“ (s. 32),
- nedokončená veta (s. 52), identické vety (s. 34),
- v tab. 4.1 nie sú uvedené veľkosti detegovaných alel, ako sú uvedené v tabuľkách 4.4., 4.7, atď., ale len rozsah veľkostí (údaje by mali byť jednotne spracované),
- v niektorých elektroforeogramoch chýbajú dĺžkové markery, vzorky sú rôzne označované (nad, pod a na géli), alebo označenie vzoriek nie je úplné (napr. a) v Prílohe I).

Poprosila by som habilitantku, aby zaujala stanovisko aj k ďalším témam a otázkam, ktoré považujem za dôležité pre túto prácu:

1. Žiada sa mi spresniť význam tvrdenia na s. 26, citujem časť textu: „... obsahujú gény s požadovanými vlastnosťami pre zlepšenie rezistencie voči biotickým a abiotickým hospodársky významným znakom“.
2. Dovolila by som si polemizovať s tvrdením habilitantky, že RAPD technika bola testovaná na všetkých rastlinných druhoch (s. 31).
3. Podobne by som polemizovala s interpretáciou výsledkov z citovanej práce Tsaballa et al. (2015) na s. 38, že „výsledkom štúdie molekulových analýz genetickej variability papriky je zvýšenie kvality a produkcie gréckych kultivarov papriky“. Nájdenie molekulových markerov v laboratóriu ešte neznamená zvýšenie produkcie pestovania.
4. Prosím zdôvodniť, čo ovplyvnilo výber konkrétnej PCR techniky pre konkrétne genotypy rastlín?
5. Na s. 56 habilitantka hodnotí úroveň polymorfizmu ražných mikrosatelitných markerov v tritikale ako „priemernú“ na základe známych počtov genotypov, lokusov a detegovaných alel. Je možné hodnotiť úroveň polymorfizmu bez známych výsledkov štatistických analýz dát (DI, PI a PIC)? Ak áno, aké sú kritériá?
6. Z ilustračných elektroforeogramov RAPD analýz v prílohe G sú zrejmé značné rozdiely v intenzite bandov (pásov) prislúchajúcich k fragmentom DNA. Ktoré pásy boli považované za reprodukovateľný marker a ako bola rozlišovaná ich intenzita? Otázka sa vzťahuje aj na elektroforeogram a) v prílohe I.
7. Bol v prípade agarózových separácií použitý rovnaký dĺžkový marker a podmienky separácie (čas, napätie)? Z ilustračných záznamov to nie je zrejmé.
8. Aký má habilitantka názor na vplyv šľachtenia na genetickú diverzitu rastlín?
9. Aké ďalšie postupy uvažuje habilitantka so svojím pracovným tímom použiť pre hodnotenie DNA variability genetických zdrojov týchto plodín?
10. Sú možnosti použitia multiplex PCR pri analýzach týchto plodín?

Záver

Habilitačná práca Mgr. Želmíry Balážovej, PhD. predstavuje výsledky vlastného výskumu v oblasti analýz DNA variability hospodársky významných obilnín - pšenice letnej, raže siatej, tritikale, ovsu siateho a kukurice siatej. Práca je významným prínosom z hľadiska identifikácie genotypov a sledovania genetickej diverzity týchto plodín.

Na základe uvedeného môžem konštatovať, že habilitačná práca Mgr. Želmíry Balážovej, PhD. spĺňa všetky odborné a formálne kritériá kladené na tento druh práce, preto

odporúčam

po úspešnom obhájení habilitačnej práce udeliť Mgr. Želmíre Balážovej, PhD. vedecko-pedagogický titul *docent v študijnom odbore 6.1.18 Agrobiotechnológie*.

V Nitre, dňa 3. 2. 2017

prof. RNDr. Klaudia Jomová, PhD.