

## OPONENTSKÝ POSUDOK NA HABILITAČNÚ PRÁCU

**Téma práce:** Variabilita antioxidantov borovice horskej (*Pinus mugo* Turra), borovice lesnej (*Pinus sylvestris* L.) a ich hybridného roja.

**Autor:** RNDr. Peter Boleček, PhD.  
Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Fakulta prírodných vied  
Katedra botaniky a genetiky

**Študijný odbor:** 4.2.1 Biológia

**Oponent:** doc. RNDr. Miroslav Bauer, CSc.  
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum,  
Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra

Intenzívna poľnohospodárska a priemyselná produkcia predstavuje významný antropogénny faktor, ktorý prispieva k znečisťovaniu životného prostredia, k devastácii prirodzených ekosystémov a ku globálnej zmene klimatických podmienok na Zemi. Dôsledkom týchto zmien je aj znižovanie biodiverzity a nevratná strata množstva rastlinných a živočíšnych druhov. Jedným z významných evolučných procesov, ktoré viedli k vzniku nových druhov organizmov je introgresívna hybridizácia, pri ktorej dochádza k infiltrácii, toku génov (alel) z jedného druhu do genofondu druhého druhu v dôsledku interšpecifickej hybridizácie a opakovaného spätného kríženia hybridov s niektorým rodičovským druhom. Pri introgresívnej hybridizácii dochádza k vzniku hybridov s variabilnou zmesou rodičovských génov, na rozdiel od hybridizácie, ktorá vedie k pomerne uniformnému zmiešaniu génov oboch rodičovských druhov v F1 generácii. Oba procesy sa v evolúcii podieľali hlavne na vzniku genetickej variability rastlín v prirodzených populáciách, ale existujú dôkazy o úlohe introgresívnej hybridizácie aj v procese domestikácie hospodárskych plodín a zvierat. Výsledky sekvenačných analýz genómu neandertálcov a denisovanov z ostaných rokov tiež jednoznačne potvrdili introgresiu ich génov do genofondu moderného človeka. Introgresia medzi druhmi je pre jednotlivé gény selektívna a existujú účinné mechanizmy filtrácie toku génov. Hybridné potomstvo sa často vyznačuje zvýšenou životaschopnosťou, odolnosťou, zrýchleným rastom a všeobecne lepšou adaptabilitou na životné podmienky. Veľmi zjednodušene tak môžeme introgresívnu hybridizáciu považovať za „zrýchlenú evolúciu“ a za potenciálny mechanizmus tvorby diverzity, potrebnej pre rýchlu reakciu hlavne rastlinných druhov na environmentálne zmeny.

Predložená habilitačná práca RNDr. Bolečka, zameraná na analýzu vybraných antioxidantných enzýmov v borovici lesnej, borovici horskej a ich hybridnom roji, je z tohto pohľadu vysoko aktuálna

a môže prispieť k prehĺbeniu poznatkov o obranných mechanizmoch uvedených druhov drevín proti abiotickému stresu. Autor sa tejto problematike dlhodobo venuje v kooperácii s Dr. Kormuťákom, pracovníkom Ústavu genetiky a biotechnológií rastlín SAV v Nitre, ktorého možno považovať za priekopníka v danej oblasti výskumu na Slovensku.

V kapitole „Súčasný stav riešenej problematiky“ autor podrobne spracoval problematiku stresových faktorov, hlavne reaktívnych foriem kyslíka, ich vplyv na rastliny a vybrané obranné mechanizmy. Významný priestor v tejto kapitole je venovaný aj podrobnej charakteristike študovaných druhov borovice, ich hybridných rojov a procesu hybridizácie. V tejto kapitole sa autor nevyhol viacerým nepresnostiam a nesprávnym formuláciám, napr. na str. 12 „ publikácie zobrazujúce enzýmy v tejto pozícií“, na str. 18 pri definícii radikálov, na str. 19 v obrázku 2, ako aj opakovaniu niektorých faktov v rovnakom, alebo podobnom kontexte (str. 52 a 53). Tieto nepresnosti mohli vzniknúť aj z dôvodu čerpania informácií z nepôvodných literárnych zdrojov, častokrát učebných textov. Dôkazom toho je aj citácia na str. 19 (Zachar, 2004), podľa ktorej môžu mať voľné radikály negatívny vplyv na genetickú informáciu. Existuje množstvo vedeckých publikácií, ktoré exaktne popisujú interakcie radikálov s DNA, ako aj vzniknuté formy jej poškodenia. Podrobná geograficko-pedologická, meteorologická a mikrodimenziálna charakteristika lokalít výskumu (podkapitoly 1.5 až 1.7) by mala byť skôr zaradená do kapitoly „Materiál a metodika“.

Ciele práce sú formulované jednoznačne a môžem konštatovať, že autorovi sa ich podarilo splniť. Všetky v práci použité metódy sú štandardné, dostatočne podrobne opísané a k obsahovej ani formálnej stránke tejto kapitoly nemám zásadné pripomienky. V kapitole „Výsledky a diskusia“ sú v logickej postupnosti prezentované dosiahnuté výsledky v textovej aj grafickej podobe, ktoré sú široko diskutované s prácami iných autorov.

### **K predloženej práci mám nasledovné otázky a pripomienky:**

1. Pre genetickú analýzu hybridného roja na základe polymorfizmu NAD5 fragmentu mtDNA ste použili 40 jedincov z lokality Medzi Bormi. Prečo ste sa však pri výbere vzoriek rodičovských druhov *P. mugo* a *P. sylvestris* rozhodli pre iné lokality (Roháče, Skalnaté pleso, Hruštín, Štrba)? Nebolo by vhodnejšie pre potvrdenie hybridného charakteru použiť vzorky *P. mugo* a *P. sylvestris* z danej kontaktnej zóny Medzi Bormi?
2. Pri genetickej analýze 117 jedincov z 5 lokalít ste identifikovali prekvapujúco vysoký počet 40 haplotypov, čo znamená, že cca každý tretí jedinec vo vašej vzorke mal unikátny haplotyp. Je takýto vysoký stupeň polymorfizmu v NAD5 géne bežný aj v iných druhoch rastlín? Neuvažovali ste o možnosti, že tak vysoký počet haplotypov môže byť dôsledkom nešpecifickej amplifikácie segmentu NAD5, čo je evidentné z obr. 23?

3. Pri analýze izoenzymového zloženia v jednotlivých mesiacoch ste na charakterizáciu izoforiem používali relatívnu mobilitu ( $R_m$ ) danej izoformy v géli. Až na náhodné výnimky sú však hodnoty  $R_m$  v jednotlivých mesiacoch úplne rozdielne. Sú to podľa Vás vždy iné izoformy s rozdielnou mobilitou v géli, alebo je to iba dôsledok nie úplne reprodukovateľných podmienok pri elektroforéze? Koľko izoforiem testovaných enzýmov APX, SOD a CAT identifikovali iní autori v *P. mugo* a *P. sylvestris* ?

4. Aký je Váš názor na využitie izoenzymov ako markerov pre hodnotenie genetickej variability?

#### **Záver:**

Záverom môžem konštatovať, že habilitačná práca RNDr. Petra Bolečka, PhD. prináša originálne vedecké výsledky v oblasti obranných reakcií ihličnanov na stres a prispieva k rozvoju študijného odboru biológia. Habilitačná práca spĺňa kritériá kladené na tento typ prác, preto **odporúčam** prácu k obhajobe a po úspešnom obhájení a zodpovedaní otázok navrhujem udeliť RNDr. Petrovi Bolečkovi, PhD., v zmysle § 1 ods. 10 Vyhlášky MŠ SR č. 6/2005 o postupe získavania vedecko-pedagogických titulov docent a profesor v znení neskorších predpisov, vedecko-pedagogický titul docent v študijnom odbore: 4.2.1. Biológia.

V Nitre, dňa 10.07. 2019

Doc. RNDr. Miroslav Bauer, CSc.

NPPC-VÚŽV v Nitre