

## Oponentský posudok

### na habilitačnú prácu MVDr. Lenky Luptákovej, PhD. na tému: „DNA barcoding – metóda uľahčujúca identifikáciu organizmov“

Na základe Vášho listu č.j. 637/2017 zo dňa 30.11.2017 predkladám Vám oponentský posudok na habilitačnú prácu **MVDr. Lenky Luptákovej, PhD. na tému: „DNA barcoding – metóda uľahčujúca identifikáciu organizmov“**

Predkladaná habilitačná práca predstavuje ucelený vedecký spis vrátane cieľov, materiálu, metodiky, výsledkov, diskusie, záverov a zoznamu použitej literatúry. Habilitačná práca je spracovaná na 156 stranách za použitia 102 literárnych zdrojov a dokladovaná 37 obrázkami a 16 tabuľkami; ako celok zodpovedá kritériám pre spracovanie odborného, vedeckého spisu tohto druhu.

#### **Jednotlivé časti habilitačnej práce hodnotím nasledovne:**

**Názov habilitačnej práce** adekvátne vystihuje riešenú problematiku, ktorá je vysoko aktuálna; v súčasnosti nielen molekulo-geeticky, taxonomicky, ale aj epizootologicky významná.

V **úvode** v širšom kontexte je poukázané na využívanie metód pre zjednodušenie prístupu k identifikácii druhov a štandardizácii postupov využívaných v toxonómii živých organizmov, resp. ich produktov.

Faktograficky je v habilitačnej práci spracovaný **súčasný stav riešenej problematiky**, ktorý zahŕňa popis metódy DNA barcodingu ako pomerne lacnej, ľahkej a rýchlej metódy identifikácie organizmov, ktorej základnou myšlienkou, resp. úlohou bolo nájsť vhodnú univerzálnu sekvenciu pre identifikáciu druhov. Určenie DNA barcodu pre živočíšnu a rastlinnú ríšu, pre huby a zástupcov ďalšej skupiny eukaryotických organizmov Protista je nesmierne náročné predovšetkým z dôvodu variability a amplifikácie.

Podstatná časť habilitačnej práce je venovaná možnosti využitia DNA barcodingu na kontrolu potravín, čo predstavuje veľmi významnú činnosť v oblasti bezpečnosti a kvality potravín. DNA barcoding je účinný pri certifikovaní pôvodu aj kvality surovín a zároveň aj pre odhaľovanie znehodnocovania potravín, ktoré sa

v súčasnosti vyskytuje v priemyselnom potravinovom reťazci. DNA barcoding je tiež úspešne využívaný a účinný pri sledovaní produktov mora.

Pre využiteľnosť a významnosť DNA barcodingu boli zriadené organizácie, ktorých základným cieľom je vývoj a zdokonaľovanie metódy DNA barcodingu ako globálneho nástroja pre identifikáciu druhov na planéte Zem. V habilitačnej práci sú sumarizované projekty a kampane zaoberajúce sa DNA barcodingom.

**Ciele habilitačnej práce** sú koncipované cielene vzhľadom na riešenú tému s využitím metódy DNA barcodingu na zistenie druhového zastúpenia vo vyšetrovaných vzorkách použitím rozdielnych úsekov genómu; tieto boli cielene zamerané na: DNA barcoding u oomycét s využitím sekvencie ITS génu a 18S génu ; DNA barcoding u húb s využitím sekvencie ITS génu a využitie DNA barcodingu na určenie druhovej diverzity zástupcov rodu *Cryptosporidium* vo vyšetrovaných vzorkách.

**Materiál, resp. vzorky** použité pri vyšetrovaní, resp. napĺňaní cieľov habilitačnej práce boli odoberané a spracované starostlivo tak, aby boli vhodné na **molekulovo-genetickú analýzu**, ktorá zahŕňala aj optimalizáciu a validáciu postupov, vrátane používaných primerov. Oceňujem testovanie široko zameraných skupín vzoriek, ktoré získanými výsledkami v konečnom dôsledku potvrdili významnosť a účinnosť metódy DNA barcodingu na identifikáciu organizmov. Prvá skupina zahŕňala vzorky vody a uhynutých rýb pre extrakciu DNA, vrátane kmeňov získaných z NIAS Genebanky. Pre zistenie druhovej diverzity zástupcov rodu *Phytophthora* boli odobraté vzorky pôdy z troch oblastí Poľska; druhová diverzita húb bola sledovaná na semenách sezamu (odobratých z ôsmich oblastí Pakistanu) a semenách stromov z čeľade *Pinaceae* odobratých vo Veľkej Británii, Poľsku, Srbsku, Rakúsku a Turecku. Pre detekciu kryptosporidií boli odobraté vzorky trusu sviň, teliat a psov z oblasti východného Slovenska.

**Výsledky** habilitačnej práce sú spracované jednotne pre každú skupinu vyšetrovaného materiálu. Na základe získaných výsledkov sekvenácie bola vykonaná fylogenetická analýza s cieľom určenia fylogenetického postavenia daného druhu.

V **diskusii** sú získané výsledky komparované s inými autormi. DNA barcoding znamená pre taxonomickú oblasť veľký prínos aj keď jeho využitie je v určitých prípadoch limitujúce, práve tým, že barcodové sekvencie sú krátke úseky DNA (cca

500-1000bp). Na druhej strane významné je využitie DNA barcodingu na odhalenie a identifikáciu kryptických druhov, kde zlyháva morfologický prístup identifikácie.

V **závere** habilitačnej práce sú zosumarizované výhody, ale tiež aj nevýhody metódy DNA barcodingu pre identifikáciu druhov.

V **zozname použitej literatúry** je spísaných a použitých 102 literárnych prameňov, ktoré sú napísané jednotne; podľa požadovanej normy, ktorá sa používa pri písaní takýchto prác.

K predloženej habilitačnej práci na jej bližšie objasnenie resp. doplnenie mám niekoľko pripomienok (použitie termínu šuška resp. šiška, kurzíva pri písaní čelade, str. 47 – severoamerické raky nie sú vektormi, ale rezervoármí račieho moru, resp. prenášač patogéna, drobné preklepy) a otázky:

1. Vo vašej práci ste zistili niekoľko druhov hubových patogénov v spojitosti s ich prítomnosťou a charakterizáciou na sezamových a píniových semenách; ktoré z nich majú zoonotický charakter, resp. predstavujú riziko pre človeka?

2. Ktorú ďalšiu metódu alebo metódy identifikácie by ste doporučili využívať s DNA barcodingom na identifikáciu jednotlivých druhov?

V závere je nutné konštatovať, že MVDr. Lenka Luptáková predložila habilitačnú prácu s vysoko aktuálnou témou; excelentne splnila požiadavky, ktoré sú kladené na tento druh prác. Predložená habilitačná práca je detailne a precízne spracovaná čo poukazuje na vysokú erudovanosť a zodpovedný prístup habilitantky k vedeckej práci.

Predložená habilitačná práca **MVDr. Lenky Luptákovéj, PhD. na tému: „DNA barcoding – metóda uľahčujúca identifikáciu organizmov“**

po obsahovej a formálnej stránke je na vysokej úrovni a preto

**d o p o r u č u j e m**

habilitačnú prácu k obhajobe v študijnom odbore 4.2.1. Biológia a po úspešnej obhajobe odporúčam aby **MVDr. Lenke Luptákovéj** bol udelený akademický titul „**docentka**“ v študijnom odbore 4.2.1. Biológia.