

**Formularz recenzji rozprawy doktorskiej
Wydziału Biologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego**

Imię i nazwisko kandydata: **Marta Elżbieta Niedzicka**

Tytuł rozprawy doktorskiej: **A genetic linkage map of *Lissotriton newts***

Promotor: **prof. dr hab. Wiesław Babik**

Promotor pomocniczy/drugi promotor/kopromotor (jeżeli powołany):.....

Recenzent: Prof. dr hab. Małgorzata Ogórska

1. **Wartość naukowa rozprawy**

a. Oryginalność badań (25-200 słów):

Temat pracy bardzo dobrze wpisuje się w długoterminowe badania koordynowane przez prof. dr hab. Wiesława Babik i jego zespołu. Rozprawa doktorska ma znaczącą wartość naukową i przedstawia wyniki oryginalnych badań. Głównym celem pracy jest przedstawienie mechanizmów izolacji rozrodczej u traszek (*Lissotriton vulgaris* i *L. montandoni*) na poziomie morfologicznym (mechanizmy pre-zygotyczne) i genetycznym (mechanizmy post-zygotyczne). W dysertacji przedstawiono po raz pierwszy mapy genetyczne (genetic linkage maps) skonstruowane na podstawie analizy sprzężeń u dwóch niemodelowych gatunków traszek, które występują sympatrycznie i tworzą mieszańcowe potomstwo. Badane osobniki otrzymano w laboratorium w sposób kontrolowany i w ten sposób utworzono trzypokoleniową rodzinę (P, F1 i F2) o znanym rodowodzie. To z kolei umożliwiło ocenę wzoru segregacji cech powstałych w wyniku rekombinacji w pokoleniu F2. Wyniki umożliwiające mapowanie genetyczne uzyskano metodą MIP (molecular inversion probes) dla kilkuset poznanych wcześniej genów kodujących białka. Ta metoda, używana dotychczas w medycynie, została przystosowana do badań płazów. Opracowanie tej metody otwiera nowe możliwości badań z zakresu biologii ewolucyjnej mieszańców kręgowców o dużych genomach.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów (25-200 słów):

Rozdział 1. Wstęp wprowadza czytelnika w zagadnienia definicji gatunku i roli izolacji rozrodczej w specjacji (aby powstał nowy gatunek musi najpierw dojść do izolacji wyjściowych populacji). Autorka skupiła się na barierach, które powstały w wyniku różnicowania genetycznego gatunków wyjściowych, które zachowały zdolność do kojarzenia się, w wyniku czego powstaje potomstwo mieszańcowe o różnym stopniu

introgresji genów. Bardzo dobrym „poligonem doświadczalnym” do takich badań są naturalne strefy mieszańcowe, w obrębie których dochodzi do krzyżowania się gatunków wykazujących częściową izolację rozrodczą. W omawianych badaniach wykorzystano gatunki traszek, które spełniają te warunki. Jest to para gatunków *Lissotriton vulgaris vulgaris* (i *L.v. ampelensis* w rozdziale 5) i *L. montandoni*. Chociaż gatunki te charakteryzują się izolacją pre-zygotyczną, wciąż mogą tworzyć potomstwo mieszańcowe. Jeżeli wykazano by przepływ genów pomiędzy gatunkami, byłoby to dowodem na tworzące się bariery pre-zygotyczne. Jednym z narzędzi używanych w badaniach nad izolacją genetyczną jest tworzenie map genetycznych, opisane w drugiej części „Wstępu”. W tym przypadku użyto dostępnych już markerów genetycznych opracowanych na bazie transkryptomów (transcriptome-based genetic markers). Tekst wstępu może posłużyć do napisania artykułu przeglądowego.

Rozdział 2. Cele pracy są jasno zdefiniowane: a/ wybór markerów genetycznych (genów kodujących białka poznanych na podstawie badań transkryptomów) do badań introgresji, b/ wybór metody (molecular inversion probes, MIP), c/ konstrukcja map genetycznych, d/ porównawcze badania morfologiczne gatunków rodzicielskich i mieszańców udowadniające istnienie barier pre-zygotycznych.

Rozdział 3. Utility of MIP in non-model species (odpowiedź na cele a/ i b/). Jest to bardzo wartościowe i oryginalne studium o zastosowaniu metod opracowanych na potrzeby badań genetyki człowieka do tzw. niemodelowych gatunków kręgowców. MIP były testowane na osobnikach należących do jednej trójpokoleniowej rodziny (P, F1 i F2) mieszańców *L. vulgaris* x *L. montandoni* oraz dodatkowo dla odległej ewolucyjnie *L. graecus*. Metoda okazała się bardzo dobrym i użytecznym narzędziem zarówno do konstrukcji map genetycznych, jak i innych badań z zakresu biologii ewolucyjnej traszek i innych niemodelowych gatunków.

Rozdział 4. Linkage map of *L. vulgaris* x *L. montandoni* newts (odpowiedź na cel c/). Rozdział jest wartościowym stadium złożonych z 3 głównych części: wyhodowanie trójpokoleniowej rodziny (P, F1 i F2), dobrze przedstawionej na schemacie w ryc. 4.3, zastosowanie markerów genetycznych (MIP) opisanych w rozdziale 3, oraz porównanie z nielicznymi istniejącymi mapami genetycznymi dotyczącymi płazów ogoniastych. Mapa zawiera 1146 markerów będących genami kodującymi białka tworzącymi 12 grup (n=12). Analiza loci, które wykazują odstępstwa od prawa Mendla o niezależnej segregacji wykazała istnienie 2 dużych bloków

(linkage blocks) z niedoborem genów *montandoni*. Wysoka śmiertelność w pokoleniu F2 wskazuje na zależną od środowiska eliminację osobników z genami *montandoni*. W rozdziale tym brakuje konkluzji.

Rozdział 5. Interspecific morphological variation (odpowiedź na cel d/). W tym rozdziale skoncentrowano się na analizie barier pre-zygotycznych w oparciu o 8 cech morfologicznych występujących u dwóch podgatunków traszki zwyczajnej (*L.v.v.* i *L.v. ampelensis*), traszki karpackiej *L. montandoni* i ich mieszańców o znanym składzie genetycznym. Testowano użyteczność cech morfologicznych, które odzwierciedlałyby skład genetyczny mieszańców w badaniach terenowych, lecz wykazano, że ta metoda nie jest wystarczająco wiarygodna.

2. **Wartość merytoryczna rozprawy**

(umiejętność wprowadzenia w tematykę badawczą i jasność sformułowanych hipotez badawczych, dobór metod badawczych i narzędzi statystycznych do analizy danych, sposób przedstawienia wyników, krytyczna analiza wyników i umiejętność ich interpretacji na tle literatury przedmiotu, jasność i poprawność wniosków) (25-200 słów):

Doktorantka wprowadza czytelnika w rolę izolacji rozrodczej w tworzeniu mieszańców i w specjacji oraz w szerokie spektrum metod używanych w tworzeniu map genetycznych. Wstęp jest napisany dobrze i przejrzysty, a cele są wyraźnie zdefiniowane. Wyniki są przedstawione w rozdziałach 3 – 5, a prace laboratoryjne i terenowe są dobrze zaplanowane i wykonane. Analiza statystyczna jest przekonująca i wykonana prawidłowo. Wyniki są poprawnie przedyskutowane. Wnioski są jasno sformułowane i przekonujące (z wyjątkiem rozdz. 4, o czym pisałam powyżej).

3. **Poprawność redakcyjna rozprawy**

(układ pracy, jasność stylu, szata graficzna itp.) (25-200 słów):

Dysertacja napisana jest w języku angielskim i składa się z 3 rozdziałów (artykułów) poprzedzonych dobrze napisanymi streszczeniami w języku polskim i angielskim, wstępem i celami postawionymi w całej pracy. Każdy z 3 rozdziałów jest zredagowany na wzór manuskryptu gotowego do wysłania do druku, chociaż lista cytowanych prac i niektóre tabele są wspólne dla całej dysertacji, co powoduje niespójność stylu. Brakuje wniosków wynikających z całej pracy, które powinny znaleźć się przed spisem literatury. Do pracy dołączone są obszerne materiały źródłowe (appendices, a nie “appendixes”) głównie w formie tabel. Język i ilustracje są poprawne i dobrej jakości.

4. Uwagi krytyczne

Najważniejsze:

Dysertacja jest mieszaniną klasycznej jednolitej formy (tzw. „książki”) i szkicami prac przygotowanych do wysłania do druku (rozdziały 3 – 5). Ta niekonsekwencja stylu powoduje niespójność całości. Brakuje części zatytułowanej „Wyniki”, w której powinny być zawarte informacje o zawartości poszczególnych rozdziałów (rozdziały 3 – 5), krótkie omówienie wyników i wnioski. W obecnej postaci te informacje są zawarte częściowo w rozdz. 2. Tytuł rozprawy powinien być poszerzony w taki sposób, aby obejmował zawartość rozdz. 5 i zagadnienie izolacji rozrodczej, co jest szeroko zapowiadane we wstępie; w obecnej formie tytuł odzwierciedla zawartość rozdz. 3 i 4, które stanowią spójną całość.

Rozdziały 3 – 5 są *de facto* oryginalnymi artykułami naukowymi napisanymi w formie wymaganej przez redakcję czasopism. W tej sytuacji artykuły wydają się niekompletne, bo nie uwzględniają wszystkich autorów (jak się domyślam). Jeżeli mam rację, to należało wpisać nazwiska wszystkich współautorów; nie umniejszyłoby to wkładu Doktorantki, lecz tylko podniosło Jej wiarygodność. To samo dotyczy braku informacji o źródłach finansowania.

Mniejsze uchybienia:

Fig. 3.1 (str. 32) nie jest odpowiednia do oryginalnego artykułu naukowego i lepiej byłoby umieścić ją w rozdz. 1.2.

Wstęp do rozdz. 4 (4.1) jest zbyt długi i zawiera powtórzone informacje (jak w rozdz. 1.2.1 na str. 21-23).

Rozdział 4.3.1, str. 56; dane o wieku osiągnięcia dojrzałości płciowej pokolenia F1 w połączeniu z datami wykonania krzyżówek (teraz dostępne tylko dla F2) wprowadziłoby bardzo cenne informacje o biologii i rozrodzie badanych gatunków traszek. W obecnej formie nie jest jasne, czy pokolenie F2 z roku 2015 składa się ze starszego rodzeństwa tej samej pary rodzicielskiej z roku 2014, czy pochodzą one z dwóch różnych krzyżówek (to można wywnioskować dopiero z dalszej lektury).

Rozdział 4.5.2: cytowana tabela powinna mieć numer 4.4.

Rozdział 5.3 – brak koordynatów geograficznych.

Fig. 5.1 – skala jest nieczytelna.

Fig. 5.4 – Nie wprowadzono rozróżnienia pomiędzy *L.v.v.* i *L.v.a.* Dwie wkładki (R i S) powinny być zamienione miejscami, podobnie jak w głównej mapie (S nad R).

Opisy powinny znajdować się nad, a nie pod tabelami.

Ramsey et al. 2003 (cytacja na str. 9) - brak w spisie literatury.

5. **Ocena końcowa** (uzasadnienie 25-200 słów):

Oceniam pracę doktorską pani Marty Elżbiety Niedzickiej bardzo wysoko. Cele są dobrze zdefiniowane oraz właściwie i oryginalnie opracowane. Doświadczenia zaplanowane są bardzo dobrze, a ich wykonanie jest dokładne i prawidłowe. Uzyskane mapy genetyczne będą bardzo przydatne w dalszych badaniach na pokrewieństwie gatunków należących do kompleksu *Lissotriton*; to samo dotyczy zastosowania metody MIP w badaniach innych niemodelowych gatunków kręgowców.

Ja, niżej podpisana, stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska pani **Marty Elżbiety Niedzickiej** spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie pani **Marty Elżbiety Niedzickiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

TAK

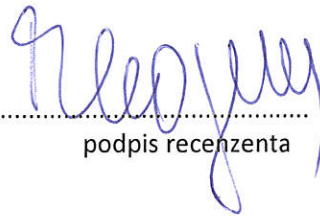
Ja, niżej podpisana, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.
Uzasadnienie wniosku (25-200 słów)

TAK/NIE

Zastrzeżenie dotyczące wyróżnienia: jeżeli Rada Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego wyrazi zgodę, proszę o odłożenie mojej decyzji w sprawie wniosku o wyróżnienie pracy dopóki Doktorantka nie wyjaśni sprawy ewentualnego współautorstwa innych osób i swojego udziału w pracach zawartych w rozdziałach 3 – 5.

05.09.2018

.....
data sporządzenia recenzji


.....
podpis recenzenta