

Prof. dr hab. Jakub Sawicki  
Katedra Botaniki i Ochrony Przyrody  
Wydział Biologii i Biotechnologii  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
Tel. 792 231 746  
e-mail: jakub.sawicki@uwm.edu.pl

#### RECENZJA

Pracy doktorskiej mgr Aleksandry Skalskiej

wykonanej w Zespole Cytogenetyki i Biologii Molekularnej Roślin Instytutu Biologii,  
Biotechnologii i Ochrony Środowiska

Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, pod opieką naukową  
Pana prof. dr hab. Roberta Hasteroka oraz Pani dr hab. Karoliny Susek, pt:

"Porównawcza analiza molekularna *Brachypodium distachyon* w celu poznania  
mechanizmów adaptacji do warunków środowiska"

Recenzja została przygotowana na wniosek Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, zgodnie z wymaganiami art. 20 ust. 5 Ustawy z 14 marca 2003 roku o stopniach i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003, Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Skalskiej porusza bardzo interesujące zagadnienia z zakresu adaptacji do zmiennych warunków środowiska modelowego gatunku *Brachypodium distachyon*, stosując coraz popularniejsze w biologii eksperymentalnej podejście mulitiomiczne. Celem pracy była analiza genomu, epigenomu, metabolomu oraz fenotypu *Brachypodium* w kontekście stresów suszy i zasolenia oraz zmiennych warunków środowiskowych.

Recenzowana praca doktorska Pani mgr Aleksandry Skalskiej przedłożona została w formie trzech oryginalnych prac opublikowanych w renomowanych czasopismach o współczynniku oddziaływania (5,924 w przypadku pracy pierwszej i trzeciej oraz 6,600 w przypadku pracy drugiej), oraz ujętych w formie manuskryptu autoreferatu wprowadzającego czytelnika w zagadnienia będące przedmiotem opublikowanych prac.

Wkład Pani mgr Aleksandry w powstanie przedłożonych prac jest znaczący. W dwóch z nich jest pierwszym autorem, a jej wkład, zgodnie z załączonymi oświadczeniami oraz wykazem udziału autorów na końcu z każdej prac dotyczył bardzo szerokiego zakresu

przeprowadzonych badań obejmujących zarówno części eksperymentalne, analizę statystyczną i bioinformatyczną oraz pisanie manuskryptów.

Pracę otwiera liczący 25 stron autoreferat obejmujący wprowadzenie, cele badawcze, metodykę oraz wyniki i dyskusję. Wyznaczone trzy główne cele badawcze jasno nawiązują to treści publikacji stanowiących trzon rozprawy doktorskiej: 1) poznanie zmienności genotypowej i epigenetycznej *Brachypodium* w zależności od zmiennych warunków środowiska; 2) charakterystykę profili metabolicznych *Brachypodium* związanych z procesami adaptacyjnymi do warunków stresu suszy; 3) określenie wpływu stresu solnego na procesy komórkowe zachodzące w trakcie kiełkowania nasion *Brachypodium*.

Zagadnienia poruszane w wprowadzającym autoreferacie nawiązują do tematyki prac wchodzących w skład rozprawy, ale są potraktowane dość pobieżnie. O roli epigenetyki w adaptacji do zmiennych warunków środowiska może napisać dość obszerny elaborat, a informacje zawarte w prowadzeniu i dyskusji są dość skromne, a stanowią przecież główny cel badań.

Pewna niekonsekwencja pojawiła się w kontekście wyjaśniania stosowanych skrótów, pomimo pochylenia się nad dekodowaniem dość oczywistych pojęć jak DNA czy SNP, Autorka nie rozwinęła zdecydowanie rzadziej używanych nazw jak CpG, CHG czy CHH. Osobiście nie jestem zwolennikiem stosowania „słowniczka”, ale przyjętą formułę należy stosować konsekwentnie. Podobnie wygląda kwestia pisowni nazw łacińskich kursywą, która to zasada dotyczy także nazw rodzajowych.

Osobną kwestię stanowi dość mało precyzyjne słownictwo z zakresu genomiki populacyjnej stosowane w autoreferacie. W pracy opublikowanej w IJMS (2020) nie analizowano struktury genomicznej osobników, możemy mówić co najwyżej o heterozygotyczności, bądź też, co najpewniej Autorka miała na myśli, strukturę genetyczną (genomiczną) populacji. Nie twierdzę, że nie można badać zróżnicowania struktury genomu, ale nie za pomocą metod i narzędzi stosowanych w wspomnianej pracy. Dyskutowałbym także nad stosowaniem terminu synonimiczny w kontekście homologii.

Autoreferat na pewno spełnia podstawowe wymagania formalne stawiane temu elementowi rozprawy doktorskiej, pozostawia jednak spory niedosyt, szczególnie w dość trudnej kwestii integrowania wyników uzyskanych w bardzo zróżnicowanych pod kątem metodyki i zakresu badań pracach.

Powyższe uwagi mają charakter w większości charakter edytorski i nie rzutują w żadnym stopniu od pozytywny odbiór zasadniczej części rozprawy składającej się z trzech opublikowanych prac naukowych. Prace te zostały już poddane wnikliwej ocenie przez recenzentów i redaktorów czasopisma, potwierdzając tym samym wysoką wartość naukową zawartych w niej wyników.

Pierwsza z prac wchodzących w skład rozprawy mgr Aleksandry Skalskiej porusza zagadnienie zmienności genomu i epigenomu osobników pochodzących z naturalnych populacji *Brachypodium* i została opublikowana w czasopiśmie *International Journal of*

*Molecular Sciences*. Czasopismo to znajduje się obecnie w pierwszym kwartyle rankingu JCR z wartością współczynnika IF wynoszącym 5,924.

Zagadnienia poruszane w pierwszym artykule są bardzo szerokie obejmujące analizę genomyczną, epigenetyczną, fenotypową oraz modelowanie warunków klimatycznych. Różnorodność zastosowanych metod obejmująca DNA-seq, Meth-Seq, fenotypowanie oraz analizę modelowania klimatu w pełni uzasadnia dość pokaźną liczbę współautorów pracy. Każda z analiz mogłaby praktycznie stanowić materiał na odrębny artykuł, integracja uzyskanych danych w jednym artykule z pewnością była trudnym wyzwaniem. Stąd też wynikły pewne nieścisłości nomenklatoryczne w zakresie genomiki populacyjnej. Pojęcie SNPa synonimicznego ograniczyłbym raczej do zakresu sekwencji kodujących białka (CDS), w kontekście zmian sekwencji DNA nie powodujących zmian sekwencji aminokwasowej. W metodyce pierwszej pracy raczej skłaniałbym się do używania pojęcia homologiczny. Dość enigmatycznie opisano również mechanizm identyfikacji SNPów: odcięcie SNPów z miejsc o pokryciu mniejszym niż 50x przy zakładanym w metodyce pokryciu 10x ograniczyło detekcję SNPów praktycznie do regionów zduplikowanych genomu. Niejasny również wydaje mi się wybór metody konstrukcji biblioteki DNA-seq (TruSeq Nano), szczególnie w kontekście badania poziomu metylacji. Metody konstrukcji bibliotek bez PCR (choćby TruSeq PCR-free) na pewno poprawiłyby wyniki sekwencjonowania miejsc silnie zmetylowanych i poprawiły detekcję SNPów w tych obszarach dostarczając bardziej ujednolicone pokrycie.

Trochę szkoda, że w uzyskane dane populacyjne wykorzystano praktycznie tylko do analiz opartych o klastrowanie, potencjał uzyskanych danych NGS zdecydowanie pozwalał na więcej, w szczególności z połączeniem z danymi epigenetycznymi. O występowaniu izolacji między populacjami nie decyduje tylko przynależność do danego klastra, ale także poziom przepływu genów czy występowanie alleli prywatnych. Czy są zatem dalsze plany na wykorzystanie wygenerowanych danych?

Druga praca analizująca wpływ suszy na metabolom *Brachypodium distachyon* została opublikowana w czasopiśmie *Cells* (drugi kwartył rankingu JCR, obecny IF 6,600). Podobnie, jak w pierwszej pracy, Doktorantka jest pierwszą autorką, przy zarazem ponad dwukrotnie mniejszej liczbie współautorów. Na szczególną uwagę i pochwałę zarazem zasługuje wykorzystanie całkowicie odmiennego warsztatu obejmującego analizę z wykorzystaniem spektrometru masowego sprzężonego z HPLC oraz powiązanych z tym metod statystycznych. Dane metabolomiczne zostały umiejętnie skorelowane z zmiennymi środowiskowymi i populacyjnymi uzyskanymi w pierwszej pracy, wykazując istotne zróżnicowanie profili osobników pochodzących z populacji nadmorskich i centralnych. Warto podkreślić bardzo znaczącą rolę Doktorantki w praktycznie każdym etapie badań i powstawaniu pracy.

Trzecia praca wchodząca w skład rozprawy doktorskiej zawiera wyniki analiz morfologicznych, molekularnych i cytologicznych okazów *Brachypodium* poddanych

działaniu stresu bądź szoku solnemu. Opublikowana została w czasopiśmie *International Journal of Molecular Sciences* (IF=5,924) zaliczanym do pierwszego kwartyła rankingu JCR. Doktorantka jest w niej drugim autorem, ale zgodnie z załączonym do rozprawy oświadczeniami, jak również roli autorów zamieszczonej w manuskrypcie, pani mgr Aleksandra Skalska uczestniczyła w praktycznie wszystkich analizach laboratoryjnych jak również w opracowywaniu wyników i pisaniu manuskryptu. Ponownie, wachlarz zastosowanych metod okazała się bardzo bogaty i z wyjątkiem spektrometrii mas, pozostałe metody, głównie cytobiologiczne nie były stosowane w poprzednich pracach. Czytając tą pracę odniosłem wrażenie, że ma ona charakter badań wstępnych, o czym zresztą wspomina Doktorantka w autoreferacie, a jedynym czynnikiem wiążącym ją z poprzednimi pracami jest badanie stresu. Szkoda, że w tej pracy nie został wykorzystany materiał biologicznych z poprzednich prac oraz „omiczne” metody transkryptomyczne i epigenetyczne. Pozwoliłoby to na dość interesujące podsumowanie i ułatwiło Doktorantce budowanie interesującego podsumowania. Niemniej jednak, trzecia praca jest na pewno dziełem wartościowym, nie wiem jednak czy koncepcyjnie dobrze się wpisującym w tematykę poruszaną w dwóch pierwszych pracach. Przeprowadzenie zawartych w trzeciej pracy badań znacząco rozszerzyło warsztat naukowy Doktorantki o metody badania ekspresji genów oraz szereg metod cytobiologicznych.

O wysokiej wartości prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Skalskiej świadczą także pierwsze pojawiające się cytowania przez autorów z innych zespołów badawczych, pomimo krótkiego okresu, który minął od ich publikacji. Szczególne uznaniem cieszy się trzecia praca, która, poza autocytacjami, została zacytowana już osiem razy. Opublikowane prace znacznie rozszerzyły naszą wiedzę o modelowym gatunku trawy *Brachypodium distachyon* zarówno z zakresu ewolucji molekularnej, fizjologii i genetyki.

#### Podsumowanie

Całość przedstawionej mi do oceny pracy doktorskiej stanowi wartościowy wkład w poznanie mechanizmów adaptacji do warunków środowiska *Brachypodium distachyon*. Doktorantka zastosowała różnorodne metody analizy zróżnicowania na poziomach genomowym, epigenetycznym i fenotypowym, otwierając sobie możliwości do wielowymiarowej analizy wygenerowanych danych. Uzyskane wyniki są bardzo interesujące i stanowią duży wkład w poznanie mechanizmów adaptacji *Brachypodium distachyon* do warunków środowiska. Recenzowana rozprawa doktorska sprawia wrażenie rzetelnej rozprawy naukowej i spełnia wszystkie wymagania stawiany pracom doktorskim w myśl ustawy z dn. 14 marca 2003 roku (dz. U. Nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami) art. 13, ust. 1.

W związku z powyższym zwracam się uprzejmie z wnioskiem do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o przyjęcie

rozprawy doktorskiej Pani magister Aleksandry Skalskiej i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Mając na uwadze zakres, nowatorskość i poziom przeprowadzonych badań wnoszę o wyróżnienie rozprawy Pani mgr Aleksandry Skalskiej stosowną nagrodą.

Z poważaniem,



Jakub Sawicki

Olsztyn, 10 czerwca 2022 roku