

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Joanny Kołodziejczyk pt.

„Genetyczne i pozagenetyczne mechanizmy kształtujące inwazyjność w świetle najnowszych badań – znaczenie lokalnych adaptacji i zmienność mikrobiomu na przykładzie szopa pracza Procyon lotor”

Tematyka, struktura i oryginalność pracy

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pt. *„Genetyczne i pozagenetyczne mechanizmy kształtujące inwazyjność w świetle najnowszych badań – znaczenie lokalnych adaptacji i zmienność mikrobiomu na przykładzie szopa pracza Procyon lotor”* składa się z trzech rozdziałów, w tym dwóch opublikowanych artykułów naukowych oraz jednego manuskryptu (obecnie w recenzji w bardzo dobrym czasopiśmie naukowym). Praca została przygotowana rzetelnie i przejrzysto, co znacznie ułatwia jej lekturę. Wstęp oraz ogólna dyskusja są dobrze skonstruowane – sprawnie wprowadzają w tematykę i trafnie podsumowują uzyskane wyniki. Cele pracy są jasno sformułowane i bardzo dobrze wpisują się w debatę naukową nad mechanizmami kształtującymi inwazyjność gatunków. Rozdział pierwszy stanowi systematyczny przegląd literatury dotyczący wykorzystania danych genomowych do analizy wpływu procesów demograficznych i selekcji na zmienność genetyczną podczas inwazji. Artykuł ten, opublikowany w prestiżowym czasopiśmie, jest inspirującą lekturą, która w sposób kompleksowy wprowadza w tematykę dwóch kolejnych rozdziałów empirycznych. Rozdział drugi (w formie manuskryptu) prezentuje wyniki analiz zmienności oraz śladów doboru naturalnego w genomie szopa pracza w populacjach rodzimych i inwazyjnych. Do tej części pracy odnoszę się szerzej w dalszej części recenzji. Rozdział trzeci, opublikowany w uznanym czasopiśmie, dotyczy porównania składu i funkcjonalności mikrobiomu szopa pracza. Wszystkie przedstawione rozdziały tworzą spójną tematycznie całość.

Oryginalność rozprawy oceniam wysoko. Podjęta problematyka nie tylko systematyzuje dotychczasowy stan wiedzy (rozdział 1), ale dostarcza istotnych danych empirycznych na temat ważnego w Europie gatunku inwazyjnego oraz wypełnia luki naszej wiedzy jeśli chodzi o zmienność genetyczną (neutralną i adaptacyjną) oraz skład i różnice w mikrobiomie szopa pracza. Wyniki przeprowadzonych badań mają bez wątpienia dużą wartość naukową i mogą służyć jako baza do dalszych badań nad tym, jak i nad innymi, gatunkami inwazyjnymi.

Wiedza i niezależność naukowa Kandydatki

Kandydatka sprawnie posługuje się zróżnicowanym warsztatem badawczym: od przygotowania systematycznego przeglądu literatury, po specjalistyczne analizy bioinformatyczne, zagadnienia z zakresu genetyki populacyjnej oraz analizę mikrobiomu. Jest pierwszą autorką wszystkich rozdziałów oraz pełni rolę autorki korespondencyjnej co świadczy o jej dużej samodzielności

naukowej. Na szczególną pochwałę zasługuje warsztat pisarski – tekst jest przystępny i dopracowany. Nie mam wątpliwości, że Kandydatka posiada głęboką wiedzę z zakresu biologii ewolucyjnej i konserwatorskiej.

Pytania i uwagi krytyczne

Z uwagi na fakt, że dwa rozdziały przeszły już proces recenzji, i w mojej ocenie są bardzo dobrze przygotowane i napisane, moje uwagi krytyczne koncentrują się głównie na rozdziale niepublikowanym (rozdział drugi). Mam też kilka pytań ogólnych, wynikających głównie z mojej ciekawości, które podaję poniżej.

Uwagi szczegółowe (rozdział drugi)

Kandydatka stosuje adekwatne narzędzia (BayeScan, pcadapt, BayPass) oraz klasyczne statystyki (π – *nucleotide diversity*, Tajima D). Moje wątpliwości budzi jednak interpretacja różnic we frekwencji alleli, zwłaszcza w odniesieniu do doboru równoważącego (*balancing selection*), który jest wyjątkowo trudny do jednoznacznej identyfikacji.

1. Czy wybrane loci kandydackie wykazują wartości statystyk BayeScan lub BayPass zgodne z teoretycznymi oczekiwaniami dla doboru równoważącego?
2. Dlaczego przyjęto tak szeroki zakres frekwencji jako świadczący o tym typie doboru (0.2 – 0.8)? Jakże konkretnie wartości przyjmowały loci kandydackie?
3. Wartości Tajimy D powyżej 1 są trudne do interpretacji bez analizy ich rozkładu w skali całego genomu. W obecnej formie interpretacja ta wydaje się ryzykowna, a w dyskusji sygnały te są traktowane jako silne przesłanki doboru.

W tekście rozdziału drugiego zabrakło mi wizualizacji wyników z programów BayeScan i BayPass (np. wykresów typu Manhattan) z zaznaczeniem wykrytych loci kandydatów (*outliers*). Taka wizualizacja znacznie ułatwiłaby interpretację wyników. Najważniejszym sygnałem doboru wydaje się być region, w którym wykryto kilka loci kandydatów, co sugerować silne sprzężenie nierównowagowe (LD) charakterystyczne dla miejsc pod działaniem doboru, ale może ono również wskazywać na warianty strukturalne (np. inwersje polimorficzne). Czy biorąc pod uwagę krótki czas od inwazji, nie należałoby oczekiwać bardzo silnych sygnałów LD wokół loci podlegających lokalnej adaptacji (w przypadku *contrast outliers*)?

Biorąc pod uwagę charakter danych (RADseq – stosunkowo niewielka liczba miejsc zmiennych w relacji do miejsc zmiennych w całym genomie), interpretacja wyników jako sygnałów selekcji związanych z warunkami klimatycznymi może być nadinterpretacją.

Inne drobne uwagi i informacje jakich mi brakowało:

- Brak szczegółowych informacji o sposobie wyznaczenia progu istotności loci kandydatów (*outliers significance threshold*) w metodach BayeScan i BayPass.

- Interesujące byłoby zestawienie różnic między użytymi metodami – czy któraś z nich wykrywała znacząco więcej miejsc kandydackich (*outliers*, podana jest liczba całkowita i liczba wspólnych sygnałów doboru)?
- Brak informacji o całkowitej wielkości genomu szopa pracza.
- Na ilu loci neutralnych (np. 4-fold SNPs) przeprowadzono analizy porównawcze? Czy ich liczba mogła wpłynąć na wyniki porównań?
- Jaką wartość przyjęto jako wyznacznik bliskości badanych loci do genów (l. 364) i czy te loci były włączone do analizy GO? Nie było to dla mnie jasne.
- Dwa ostatnie paragrafy wstępu warto wyraźniej rozdzielić na część opisującą badany gatunek oraz część definiującą cele pracy.
- Narzędzie VCFtools nie jest już rozwijane; obecnie standardem w bioinformatyce jest BCFtools.
- Pojęcia „dywergencja” (*divergence*) i „zróżnicowanie” (*differentiation*) są używane zamiennie, mimo że nie są tym samym.
- Na początku wyników pojawia się informacja o 5 mln SNP, by po filtrowaniu liczba ta wzrosła do przedziału 1–23 mln. Nie rozumiem tej rozbieżności, prawdopodobnie wkradł się tutaj jakiś błąd.
- Co dokładnie oznacza „reduced frequencies” (l. 330) i jaką zmianę uznano za istotną zmianę/spadek częstości? Np. czy spadek z np. 0.40 do 0.39 też był klasyfikowany jako obniżona częstość?

Pytania ogólne:

1. Jak najbardziej rozumiem wykorzystanie metody RADseq, nie ma przeciwwskazań do jej użycia w celu szukania śladów działania doboru w genomie, mimo wszystko metoda ta oparta jest na niewielkiej liczbie miejsc zmiennych w genomie i znalezienie genów pod działaniem doboru jest w takim przypadku znacznie trudniejsze (szanse są znacznie mniejsze). Dyskusja taka nie jest nowa w świecie naukowym i ciekawa jestem jak Kandydatka broni takiego podejścia? (rozdział drugi)
2. Analizy wzbogacenia ontologii genów (*GO enrichment*) często generują bardzo długie listy genów. W jakim stopniu wyniki te można interpretować konstruktywnie bez dodatkowych analiz? W szczególności w kontekście ograniczeń związanych z RADseq. Tak jak w poprzednim pytaniu, nie jest to krytyka wybranego podejścia, ciekawi mnie jednak zdanie Kandydatki w tej sprawie. (rozdział drugi)
3. Interesuje mnie perspektywa Kandydatki na dynamikę rozwoju genomiki inwazji: czy od momentu publikacji przeglądu (rozdział pierwszy) zauważalny jest dalszy, gwałtowny wzrost liczby badań wykorzystujących całe genomy? Zakładam, że tak. Biorąc pod uwagę dynamikę rozwoju genomiki, które z tematów omawianych w przeglądzie rozwijają się, według kandydatki, najintensywniej?

Podsumowanie

Pomimo sformułowanych powyżej uwag krytycznych, przedłożoną rozprawę oceniam bardzo wysoko. Stwierdzam, że spełnia ona wszystkie wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i wnoszę o dopuszczenie mgr Joanny Kołodziejczyk do dalszych etapów postępowania ws. nadania stopnia doktora.

Dr hab. Krystyna Nadachowska-Brzyska
Instytut Nauk o Środowisku
Wydział Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego

Kraków, 30.01.2026