

**Formularz recenzji rozprawy doktorskiej  
Rada Dyscypliny Nauki biologiczne  
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie**

**Imię i nazwisko kandydata: lic. Anna Wróbel**

**Tytuł rozprawy doktorskiej: Molecular ecology and phylogenetics of Alpine alkali grasses  
(Poaceae: *Puccinellia*)**

**Promotor: prof. dr hab. Marcin Nobis**

**Recenzent: dr hab. Ada Wróblewska, prof. UwB**

**1. Wartość naukowa rozprawy**

**a. Oryginalność badań**

Rozprawa doktorska lic. Anny Wróbel prezentuje zagadnienia dotyczące ewolucji taksonów w rodzaju *Puccinellia*, należących do grupy alpejskich halofitów, oraz mających zasięg geograficzny w Azji Centralnej. Doktorantka podeszła wieloaspektowo do pracy tj. wykorzystwała markery i nowoczesną technikę analiz molekularnych (sekwencjonowanie wielkoprzepustowe metodą DArTseq) obok sekwencjonowanie metodą Sanger DNA chloroplastowego i regionu ITS. Przedstawiła w sposób hierarchiczny, najpierw badania z zakresu zasobów zmienności genetycznej oraz struktury genetycznej wybranego gatunku halofita (*P. pamirica*) w aspekcie izolacji środowiskowej jego populacji oraz modelowania potencjalnego rozmieszczenia w Azji Centralnej na wskutek przyszłych zmian klimatycznych. Drugim istotnym zagadnieniem było wskazanie możliwości hybrydyzacji i prawdopodobnej ekspansji hybrydy *P. xvachanica*, w kontraście do malejącego zasięgu geograficznego *P. himalaica*. Podsumowaniem badań stało się wskazanie wielokierunkowej i wieloetapowej historii ewolucyjnej w tej grupie gatunków. Wybór tematyki oraz zaproponowany schemat rozwiązania problemów ewolucji halofitów w Azji Centralnej jest do tej pory pierwszym tak pełnym podejściem i uważam jednocześnie, za istotne osiągnięcie naukowe Doktorantki na tle międzynarodowej literatury tematu. Połączenie narzędzi z zakresu biologii molekularnej, szczegółowych i wielowątkowych analiz statystycznych oraz podjęcie tematyki hotspotów w odniesieniu do gatunków traw o ekstremalnych wymaganiach siedliskowych, dało możliwość zbadania i wyjaśnienia mechanizmów ewolucji tej kluczowej grupy roślin w wysokogórskich izolowanych siedliskach Azji Centralnej. Doktorantka wykazała również, że łączenie narzędzi molekularnych oraz analiz morfologicznych należą nadal do skutecznych w określaniu przynależności taksonomicznej w przypadku skomplikowanej, pod względem wielokierunkowej ewolucji, grupy mannicy. Prace wpisują się ponadto w trend badań dotyczących perspektywy zachowania hospotów/bioróżnorodności tej grupy roślin w odniesieniu do zmian klimatycznych w dobie antropocenu na terenie Azji Centralnej. Wartość tych badań podnosi również uzyskany przez Doktorantkę Diamentowy Grant w 2018 r. (MNiSW) pozwalający jej na wykonanie badań w kilku etapach, od ekspedycji terenowych do Azji Centralnej w celu zbioru materiału, do analiz genetycznych m.in. za pomocą metody DArTseq.

## **b. Wartość naukowa artykułów**

Dwa artykuły naukowe, które są podstawą rozprawy doktorskiej ukazały się w czasopismach międzynarodowych zamieszczonych na liście JCR, tj. w *Systematic Biology* (2023 r.) oraz w *Frontiers in Plant Science* (2024 r.). Trzecia praca, w postaci manuskryptu, została wysłana do czasopisma *Molecular Phylogenetics and Evolution* w 2024 r. Wartość naukowa dwóch pierwszych prac wiąże się nie tylko z opublikowaniem ich w bardzo dobrych czasopismach będących w kwartylu pierwszym – Q1, w których podejmowana jest m.in. szeroko zakrojona tematyka filogenezy, wzorców różnorodności genetycznej, systematyki i ekologii roślin. Wartością naukową artykułów jest informacja o zbiorze znaczącej liczby prób do analiz genetycznych, oraz odpowiedniej reprezentacji liczby populacji *P. pamirica* z obszaru Azji Centralnej, które zostały wykorzystane do analiz różnorodności genetycznej w różnej skali zasięgu geograficznego, oraz na różnych poziomach badań ewolucyjnych. Niewątpliwie zbiór gatunków z rodzaju *Puccinellia* podczas ekspedycji z wyżej wymienionego regionu, ich zdeponowanie w herbarium Uniwersytetu Jagiellońskiego, ale również przekazane dane sekwencji cpDNA, ITS badanych osobników oraz gatunków do NCBI stanowiąc będzie ważne źródło dla naukowców zajmujących się tym rodzajem, w tym również bez konieczności ich wyjazdu do Azji. Połączenie i porównanie kilku technik i markerów molekularnych to również atut tej rozprawy. Skrupulatność i rozbudowana analiza dotycząca wzorców zmienności genetycznej *P. pamirica*, uwzględniająca przestrzenną strukturę wzorców genetycznych, kierunki przepływu genów, demografię historyczną, modelowanie niszek ekologicznych pozwoliły szczegółowo opisać mechanizmy wpływające na różnorodność genetyczną izolowanych populacji tego gatunku. Podsumowując, wartość naukową rozprawy doktorskiej oceniam wysoko.

## **2. Wartość merytoryczna rozprawy**

We Wstępie Doktorantka wyjaśniła szczegółowo potrzebę badań historii ewolucyjnej gatunków wysokogórskich z rodzaju *Puccinellia* w Azji Centralnej, podając liczne argumenty, zasadność zastosowania markerów i technik molekularnych, oraz przedstawiała główne cele badań podjęte w trzech publikacjach, niestety bez wyszczególnienia hipotez badawczych.

Postawione główne cele badawcze, w trzech publikacjach, zostały przeanalizowane przez zastosowanie sekwencjonowania metodą DArTseq, która stanowi jedną z nowszych metod oceny polimorfizmu DNA, oraz metodą Sangera w przypadku nrDNA i cpDNA. Szczególnie rozbudowana pod względem analiz statystycznych jest publikacja, w której Doktorantka podjęła się określenia wzorców różnorodności genetycznej u *P. pamirica*. Na uwagę zasługuje skrupulatne przedstawienie analiz statystycznych w suplementach, uwzględniające istotne parametry i założenia do każdej metody oraz wszechstronne wykorzystanie programu R. Nie mam wątpliwości co do poprawnej i złożonej interpretacji wyników badań, które właściwie przeszły zasadnicze recenzje i zostały dopuszczone do druku w czasopismach. W kilku punktach czuje jednak niedosyt interpretacji wyników, np. w publikacji dotyczącej hybrydyzacji *P. pamirica* i *P. himalaica* jednym z pierwszych celów badań było określenie relacji filogenetycznych między wysokogórkimi gatunkami *Puccinellia* w Azji Centralnej, jednak te wyniki w pracy nie zostały gruntownie przedyskutowane. Mogę wysnuć jedynie wnioski, że to właśnie ostatnia przedstawiona praca jest odpowiedzią na moje wątpliwości. W ostatniej

pracy brakuje również potwierdzenia (cytowania) wyboru gatunku *Poa pratensis* jako *outgrupy*.

### 3. Poprawność redakcyjna rozprawy

Rozprawa doktorska lic. Anny Wróbel została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Marcina Nobisa w Zakładzie Taksonomii, Fitogeografii i Paleobotaniki Instytutu Botaniki, Wydziału Biologii, Uniwersytetu Jagiellońskiego. Forma rozprawy jest zgodna z ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późn. zmianami). W tym przypadku podstawą rozprawy są trzy współautorskie prace naukowe w języku angielskim, stanowiące spójny tematycznie zbiór, z odpowiednio określonym tytułem rozprawy. Dwie z nich ukazały się w *Systematic Biology* (2023 r.) i *Frontiers in Plant Science* (2024 r.) w czasopiśmie z listy JCR. Trzecia publikacja została dołączona jako manuskrypt, z informacją o przesłaniu jej do recenzji w czasopiśmie *Molecular Phylogenetics and Evolution*, w czerwcu 2024 r. Rozprawa obejmuje również streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp w jęz. angielskim oraz 3 zasadnicze rozdziały zawierające opublikowane prace i ostatnią publikację przedstawioną jako manuskrypt, podsumowanie rozprawy doktorskiej (*General Discussion*), podziękowania oraz oświadczenia współautorów rozprawy. We wszystkich pracach stanowiących rozprawę doktorską, lic. Anna Wróbel jest zarówno pierwszym i korespondencyjnym autorem. W przypadku każdej pracy wkład Autorki został opisany bardzo szczegółowo wskazując na jej wiodącą rolę w tworzeniu koncepcji, badań i przygotowaniach ich do publikacji. Natomiast wkład pozostałych osób w powstanie publikacji naukowych nie wykracza poza ramy współpracy naukowej, która związana jest z przygotowaniem doktoratu. Uważam, że rozprawa doktorska spełnia warunki pod względem formalnym.

Rozprawa doktorska, poza załączonymi artykułami, jest napisana poprawnym językiem (polskim i angielskim), została zastosowana w niej odpowiednia nomenklatura biologiczna, jest czytelna i względnie dopracowana pod kątem merytorycznym. Doktorantka zdecydowała się na zamieszczenie rozdziału pt. *General Discussion*, na końcu rozprawy, podsumowującego zagadnienia przedstawione w publikacjach oraz przedstawiając perspektywy wykorzystania badań genetycznych *Puccinellia* w gospodarce człowieka czy biotechnologii. Rozdział ten nawiązuje w znaczącym stopniu do wyników badań, niż przedstawia główne konkluzje/znaczące wnioski wynikające z tych wyników. Artykuły naukowe są uzupełnione o załączniki, jednak nie wszystkie. Drobne uwagi krytyczne dotyczą braku w rozprawie doktorskiej niektórych tabel i rycin stanowiących dodatkowe załączniki do publikacji (publikacja 2 – tabela 2 i 3, tabela 6; publikacja 3 – tabela 1). Część z nich można odnaleźć w publikacjach zamieszczonych online, jednak ich obecność w rozprawie niewątpliwie ułatwiłaby śledzenie tej pracy.

### 4. Uwagi krytyczne

Nawiązując do podejścia formułowania hipotez i ich weryfikacji w przyrodniczych pracach naukowych, w rozprawie doktorskiej lic. A. Wróbel to właśnie one nie zostały uwzględnione. Poruszane zagadnienia z zakresu historii ewolucyjnej, filogenezy oraz wzorców zmienności genetycznej wysokogórskich halofitów *Puccinellia* z Azji Centralnej byłyby bardziej pełne gdyby hipotezy oraz poszczególne główne cele były wyszczególnione i ze sobą powiązane. Hipoteza badawcza została przedstawiona jedynie w pracy dotyczącej filogenezy i

historii ewolucyjnej *Puccinellia*, jednak i ona nie została nadmieniona we wstępie do rozprawy doktorskiej. Dlatego, w tym punkcie miałabym pytanie do Doktorantki i prosiłabym o przedstawienie hipotez badawczych oraz zestawienie ich z głównymi celami w odniesieniu do zrealizowanych zagadnień, w trzech publikacjach w rozprawie doktorskiej.

Druga uwaga, która jest bardziej sugestią to wykorzystanie i testowanie innych markerów molekularnych cpDNA w przypadku analiz filogenetycznych wysokogórskich *Puccinellia*. Niewątpliwie dwa wykorzystane markery rpl16 i rpoB-trnC pozwoliły na wyodrębnienie trzech głównych grup haplotypów, w tym jednej uwzględniającej *P. pamirica* oraz hybrydy *P. xvachanica*. Przy tak zaawansowanych badaniach molekularnych i porównawczych trzech różnych markerów nDNA, cpDNA i ITS warto byłoby pokusić się o pełniejszy sygnał filogenetyczny u *Puccinellia* w przypadku cpDNA testując dodatkowo inne markery cpDNA. Powyższe stwierdzenie jest moją propozycją do ostatniej pracy, rozumiejąc jednocześnie i tak ogrom prac, które Doktorantka włożyła w rozprawę doktorską.

## 5. Ocena końcowa

Na podstawie postawionych w rozprawie doktorskiej celów badawczych, zastosowanych technik molekularnych, opisu wyników oraz dyskusji, mogę stwierdzić, że Doktorantka posiada ogólną wiedzę teoretyczną wpisującą się w zagadnienia genomiki, ale należy tutaj dodatkowo podkreślić, wiedzę i umiejętności wychodzące poza podstawowe jej ramy. Wykazała samodzielność w budowaniu koncepcji pracy, zbiorze materiału do analiz, rozbudowanych analizach statystycznych oraz dyskusji wyników. Dodatkowo pozyskanie środków krajowych na realizację projektu w ramach konkursu Diamentowy Grant, przedstawia ją jako dynamicznego, ambitnego oraz gruntownie merytorycznie przygotowanego młodego naukowca, mającego potencjał do dalszego rozwoju swojego warsztatu naukowego. Podsumowując uważam, że recenzowana rozprawa wnosi istotny wkład do wiedzy w zakresie mechanizmów ewolucji, filogenezy oraz wzorców różnorodności genetycznej wysokogórskich taksonów *Puccinellia* w Azji Centralnej, a wskazane wyżej krytyczne uwagi nie wpływają na ostateczną pozytywną bardzo wysoką jej ocenę.

Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska lic. Anny Wróbel spełnia warunki 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 wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie lic. Anny Wróbel do dalszych postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

**TAK**

Ja, niżej podpisany wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej. Uzasadniając wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej, podtrzymuje wszystkie argumenty, które zamieściłam przy ocenie końcowej pracy w pkt. 5.

**TAK**

10.09.2024

data sporządzenia recenzji



podpis recenzenta