

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Martynty Lasek
pt. “Zmienność genetyczna ekotypów sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w Polsce i jej
implikacje w badaniach ewolucyjnych i gospodarowaniu zasobami leśnymi w obliczu zmian
środowiskowych”

wykonanej w Zakładzie Genetyki i Interakcji Środowiskowych
pod kierunkiem prof. dr. hab. Witolda Wachowiaka

1. Tematyka i struktura pracy

Głównym celem przedłożonej mi do recenzji rozprawy jest dogłębna analiza zmienności oraz struktury genetycznej sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w Polsce. Badania te trafnie wpisują się w nurt współczesnej dyskusji naukowej dotyczącej kondycji drzewostanów w obliczu postępujących zmian klimatycznych. Wiedza o strukturze genetycznej i zasobach zmienności – determinujących potencjał adaptacyjny gatunków kluczowych pod względem ekologicznym i ekonomicznym – jest niezbędna do budowania efektywnych strategii ochrony oraz racjonalnego gospodarowania zasobami leśnymi. Pracę charakteryzuje interdyscyplinarne podejście, umiejętnie łączące zaawansowane analizy genetyczne z danymi fenotypowymi i klimatycznymi.

Rozprawa składa się z ogólnego wstępu oraz trzech manuskryptów, z których każdy podejmuje odrębne zagadnienie: **W rozdziale pierwszym** Autorka weryfikuje, czy wyraźne zróżnicowanie fenotypowe polskich ekotypów sosny znajduje odzwierciedlenie w ich strukturze genetycznej oraz czy odpowiada ono przyjętej regionalizacji nasiennej. Uzyskane wyniki wskazują na uderzający brak wyraźnej struktury między populacjami. Stanowi to ważną wskazówkę dla leśników, przemawiającą za uelastycznieniem zasad gospodarowania zasobami nasiennymi. **W rozdziale drugim** analizowane populacje z Polski zostały osadzone w szerszym, europejskim kontekście geograficznym. Autorka bada, czy ich zmienność genetyczna jest efektem procesów rekolonizacji po ostatnim zlodowaceniu oraz mieszania się pul genowych o różnym pochodzeniu i pokazuje, że wysoki potencjał adaptacyjny sosny w naszym kraju wynika z postglacjalnej admisji różnych linii genetycznych. **W rozdziale trzecim** Autorka przeprowadziła korelację zmienności genetycznej ze zmiennymi środowiskowymi oraz analizowała zróżnicowanie fenotypowe polskich populacji. Badania te wykazały, że zmienność klimatyczna oraz neutralna struktura genetyczna są niewystarczające, aby w pełni wyjaśnić obserwowane różnice fenotypowe. Wszystkie trzy rozdziały są ze sobą tematycznie powiązane i co ważne mają istotny aspekt aplikacyjny. Przedstawione wyniki badań wskazują na potrzebą rewizji dotychczasowych strategii zarządzania populacjami sosny zwyczajnej w Polsce.

2. Wiedza i samodzielność kandydatki

Przedstawione badania wymagały od Autorki opanowania szerokiego wachlarza metod analitycznych wykorzystujących różnego rodzaju dane: genetyczne, środowiskowe oraz

fenotypowe. Praca została przygotowana w sposób jasny, z dużą starannością i dbałością o detale. Bazując na deklaracjach Autorki oraz współautorów poszczególnych publikacji, nie mam wątpliwości, że kandydatka wykazała się wysokim stopniem samodzielności w prowadzeniu badań naukowych. Jej warsztat badawczy obejmuje wszystkie kluczowe etapy pracy naukowej: od przygotowania spójnej koncepcji i wnikliwego przeglądu literatury, przez prace laboratoryjne i zaawansowane analizy statystyczne, aż po przygotowanie manuskryptów i skuteczną publikację wyników w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym.

3. Oryginalność naukowa rozprawy

Nie mam wątpliwości, że rozprawa doktorska przedstawia nowe i oryginalne wyniki badań, które trafnie wpisują się w aktualną dyskusję naukową dotyczącą zmienności genetycznej drzewostanów europejskich oraz ich potencjału adaptacyjnego w obliczu zmieniającego się klimatu. Na wysoką ocenę zasługuje komplementarne podejście Autorki, łączące genetykę z analizą fenotypową i środowiskową, a także wyraźny aspekt praktyczny przeprowadzonych analiz.

Badania zostały zrealizowane z wykorzystaniem zarówno klasycznych markerów molekularnych, jak i nowego, niedawno opracowanego zestawu markerów genomowych (ok. 50 tysięcy SNP). W mojej ocenie zastosowane analizy oraz interpretacja wyników są poprawne i dostarczają cennych danych na temat zmienności sosny zwyczajnej w Polsce. Wyniki te mogą mieć bezpośrednie zastosowanie w programach monitoringu oraz w doskonaleniu strategii zagospodarowania drzewostanów sosnowych. Pewien niedosyt pozostawia jedynie stopień wykorzystania dostępnych danych, o czym piszę w dalszej części recenzji.

5. Pytania i/lub uwagi krytyczne

Genomy wielu gatunków drzew, w tym sosny zwyczajnej, charakteryzują się ogromnymi rozmiarami i wysoką złożonością. Mając świadomość ograniczeń technicznych i finansowych z tym związanych, chciałbym poprosić Autorkę o odniesienie się do następujących kwestii: Czy znane są Autorce plany dotyczące pełnego sekwencjonowania genomu referencyjnego sosny zwyczajnej? Czy zdaniem Autorki inwestowanie w sekwencjonowanie tak ogromnych genomów jest uzasadnione, czy też obecne podejścia (takie jak zastosowane w pracy macierze SNP) są wystarczające do udzielenia odpowiedzi na kluczowe pytania o strukturę genetyczną i potencjał adaptacyjny (czy inne pytania postawione w rozprawie)? Czy dysponując informacjami całogenomowymi, spodziewalibyśmy się istotnie innych wyników w zakresie ogólnej zmienności i struktury genetycznej niż te przedstawione w rozprawie? Czy jest możliwe, że lokalne adaptacje oraz unikalne cechy cennych ekotypów mają swoje podłoże w obszarach genomu, które nie zostały objęte obecną analizą?

Odczuwam pewien niedosyt związany z analizą markerów typu *outlier* (wykrytych m.in. za pomocą programu *pcadapt*). Zastanawiam się, czy istniała możliwość wskazania konkretnych genów, w których obrębie lub bezpośrednim sąsiedztwie znajdowały się zidentyfikowane markery *outlier*, a następnie powiązania ich z cechami o kluczowym znaczeniu adaptacyjnym dla sosny zwyczajnej. Przeglądając kluczową publikację Kastally et al. z 2022 roku (<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9303803/>) zauważyłam, że wiele dodatkowych informacji jest dostępnych przynajmniej dla części analizowanych markerów (w tym informacja o funkcji genów; cytując z ww publikacji: “*The majority of markers have been used in previous studies and come associated with various information, depending on the source, including functional annotation, gene expression at the tissue level and allele frequency estimates in up to 20 European populations*”). Dlaczego tej cennej informacji nie wykorzystać?

Dodatkowo uważam, że przedstawienie wyników analiz *pcadapt* i *OutFLANK* z uwzględnieniem położenia markerów na grupach sprzężeń (*linkage groups*) znacząco ułatwiłoby interpretację wyników. Pozwoliłoby to zweryfikować, czy zidentyfikowane markery typu *outlier* nie wykazują tendencji do grupowania się w określonych regionach genomu. Również ta informacja jest chyba dostępna. To byłoby wspaniałe uzupełnienie.

Zastanawia mnie również brak analiz typu *pcadapt* w rozdziale drugim uwzględniającym więcej populacji, w szczególności jeśli chodzi o populacje górskie wykazujące większą strukturę potencjalnie wynikającą z lokalnych adaptacji i izolacji populacji.

W Rozdziale pierwszym zastanawia mnie struktura widoczna wzdłuż osi PCA2 na Figurze S9 PC2 c) (markery typu *outlier*). Co ona może oznaczać? Czy możliwe jest, że pokazuje polimorficzne warianty strukturalne?

Czy Autorka rozważała analizy GEA (ang. *genotype environment association analysis*) - wydaje mi się, że mogłyby być dobrym uzupełnieniem analiz przeprowadzonych w Rozdziale trzecim. Dlaczego w przeprowadzonych w Rozdziale trzecim analizach nie wykorzystać wszystkich dostępnych populacji (także tych spoza Polski)? W szczególności jeśli chodzi o analizę czynników klimatycznych (zakładam że łatwiej dostępnych niż cechy fenotypowe)? Czy ogranicza nas tu stosunkowo mała próba z tej części zasięgu sosny?

Na koniec, ciekawa jestem jak wyniki przedstawione w niniejszej rozprawie mają się do wyników z analiz genetycznych innych gatunków drzew w Polsce (w szczególności innych gatunków iglastych i/lub cennych ze względów ekonomicznych). Jaka jest ich zmienność genetyczna, potencjał adaptacyjny i struktura genetyczna? Co wiemy na ten temat i jak sosna “wypada” na ich tle?

Pomimo wyżej przedstawionych drobnych uwag krytycznych, uważam przedstawioną pracę jako bardzo dobrą i gratuluję Kandydatce, trzech bardzo dobrze napisanych i częściowo już opublikowanych manuskryptów.

Ocena końcowa:

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Martyny Lasek spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Dendrologii Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie mgr inż. Martyny Lasek do dalszych etapów postępowania ws. nadania stopnia doktora.

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