



INSTYTUT OCHRONY PRZYRODY

POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Dr hab. Aleksandra Biedrzycka
al. Adama Mickiewicza 33, 31-120 Kraków
tel. 12 370-35-00
e-mail: sekretariat@iop.krakow.pl

Kraków, 07.09.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Tomasza Gaczorka pt.: "Adaptive introgression of MHC genes – a comparative analysis of vertebrate hybrid zones" wykonanej pod opieką prof. Dr hab. Wiesława Babika

1. Wartość naukowa rozprawy

a. **Oryginalność badań:**

W przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej Pan mgr Tomasz Gaczorek podejmuje próbę odpowiedzi na pytanie o rolę introgresji adaptacyjnej w kształtowaniu się zmienności genów głównego kompleksu zgodności tkankowej. Geny MHC, przede wszystkim dzięki swojej niezwyklej zmienności oraz udowodnionemu znaczeniu w obronie przed patogenami, stały się modelowym układem do badania procesów kształtujących adaptacyjną zmienność genetyczną naturalnych populacjach kręgowców. Tej chwili wiemy już dużo o poszczególnych systemach. Tematem debaty są jednak ciągle mechanizmy, które powodują bardzo duże różnice w poziomie zmienności pomiędzy grupami a nawet spokrewnionymi gatunkami kręgowców oraz mechanizmy, które umożliwiają utrzymanie polimorfizmu nieporównywalnie wyższego niż w innych grupach genów. Wiadomo że, powstawanie nowych wariantów MHC zachodzi dzięki rekombinacji i konwersji z już istniejących wariantów i przez gromadzenie korzystnych mutacji powstałych *de novo*. Postulowano również przyjmowanie nowych wariantów od innych gatunków w procesie hybrydyzacji. Udowodnienie, że przyjmowanie alleli od spokrewnionego gatunku ma rzeczywiście znaczenie adaptacyjne wymaga porównania poziomu introgresji MHC i ogólnogenomowego poziomu introgresji oraz zbadania wielu stref mieszańcowych. Dzięki temu możliwe jest odróżnienie adaptacyjnej roli introgresji od efektów demograficznych i typowego dla MHC tzw. polimorfizmu ancestralnego, którego efektem jest utrzymywanie się tych samych wariantów MHC nawet u dalej spokrewnionych gatunków. Takie porównanie zostało do tej pory przeprowadzone tylko w strefach mieszańcowych u traszek z rodzaju *Lissotriton*.

Doktorant w swoich badaniach idzie dalej. Przeprowadza analizy introgresji w szeregu stref mieszańcowych sześciu gatunków traszek *Triturus*. W kolejnej pracy analizuje strefy mieszańcowe

siedmiu gatunków jaszczurek *Podarcis*, by w ostatnim rozdziale przeprowadzić metaanalizę zmienności MHC i zmienności ogólnogenomowej w strefach mieszańcowych gatunków należących do wszystkich głównych grup kręgowców. W pracy tej zostały wykorzystane własne dane o zmienności MHC oraz ogólnodostępne dane o zmienności genomowej, co pozwoliło na stworzenie bardzo obszernej bazy danych. Uzyskane wyniki niezbicie wskazują, że introgresja adaptacyjna MHC w strefach mieszańcowych kręgowców występuje powszechnie i niewątpliwie odgrywa ważną rolę w utrzymywaniu wysokiego polimorfizmu tych genów.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów:

Wyniki badań zostały zebrane w trzech rozdziałach, z których dwa pierwsze są już opublikowane w *Molecular Ecology*, czasopiśmie w którym publikowane są najważniejsze artykuły z dziedziny ekologii i ewolucji wykorzystujące metody molekularne. Obie prace wykorzystują podobne metody i prezentują podobne, uzupełniające się wyniki. Należy jednak podkreślić, że w obu przypadkach zastosowany warsztat badawczy został zaplanowany z dużym rozmachem, zarówno jeśli chodzi o obszar, z którego zostały zebrane próby (choć tutaj należy zwrócić uwagę, że w pewnej mierze udało się wykorzystać wcześniejsze dokonania Zespołu, w którym powstały prace), jak i warsztat analityczny (tutaj również Doktorant mógł częściowo czerpać z doświadczeń Zespołu, uważam to jednak za zaletę, która pozwoliła na przeprowadzenie zaawansowanego projektu. Według załączonych oświadczeń rola mgr Gaczorka w przedstawionych badaniach była znacząca.

Trzeci rozdział rozprawy stanowi nie złożony jeszcze do druku manuskrypt. Jest on rozwinięciem wcześniejszych badań i próbuje określić powszechność adaptacyjnej introgresji MHC. W tym celu autorzy (na tym etapie Doktorant i Promotor) przeprowadzili metaanalizę dziewięciu kolejnych systemów, w których badali introgresję w strefach mieszańcowych. W mojej ocenie ten rozdział wymaga uściśleń przed złożeniem do druku. Odnoszę się do nich w kolejnych częściach recenzji. Rozprawa jako całość podejmuje próbę potwierdzenia zaproponowanej, jednak do tej pory nieudowodnionej teorii, co wskazuje na jej wysoką wartość naukową.

2. Wartość merytoryczna rozprawy i uwagi krytyczne

W tej części recenzji odniosę się jedynie do nie opublikowanego jeszcze manuskryptu. Dwa pierwsze rozdziały przeszły przez wnikliwy proces recenzji i nie mam żadnych wątpliwości co do ich wartości merytorycznej. Trzeci rozdział stanowi metaanalizę, w której autorzy porównali dane o introgresji MHC i introgresji ogólnogenomowej w strefach mieszańcowych gatunków należących do głównych grup kręgowców. Analiza miała na celu sprawdzenie częstości i kierunku introgresji w zależności od różnicy w poziomie zmienności między krzyżującymi gatunkami. Autorzy sprawdzali również czy

proces wygląda inaczej w zależności od klasy genów MHC i czasu dywergencji pomiędzy krzyżującymi się gatunkami. Badania te są pierwszymi tego rodzaju i niewątpliwie przynoszą istotną wiedzę na temat procesu. Mam jednak wrażenie, że wysunięte wnioski są nieco zbyt uogólnione biorąc pod uwagę, że analizowane strefy mieszańcowe reprezentowane są głównie przez pary gatunków należące do płazów i gadów. Ssaki są reprezentowane tylko przez nornice i jedną strefę mieszańcową, a ptaki jedynie przez trzy gatunki dzięciołów. Tymczasem wiadomo, że u ptaków zmienność regionu MHC silnie zależy od grupy systematycznej. Przykładem jest tu ekstremalnie prosty system u kuraków i niezwykle skomplikowany u ptaków wróblowych. Wykazano, że u ptaków presja patogenów, która kształtuje poziom zmienności MHC jest bezpośrednio związana z cechami historii życiowych konkretnych gatunków. Te mniej narażone na infekcje posiadają zwykle mniejszy repertuar wariantów MHC. Dlatego, mimo że nie mam wątpliwości co do ogólnego wniosku, że introgresja adaptacyjna odgrywa ważną rolę w kształtowaniu zmienności MHC, to wydaje mi się, że na tym etapie wiedzy nie należy generalizować co do tego że zwykle przebiega w kierunku gatunku o niższej zmienności MHC. Trudno również wyciągać wspólne wnioski dla różnych grup systematycznych i gatunków różniących się cechami historii życiowych. Autorzy są świadomi ograniczeń jakie niesie ze sobą przeprowadzona metaanaliza i przedstawiają je w osobnym podrozdziale, biorąc je jednak pod uwagę wydaje mi się, że należałoby skrócić i złagodzić konkluzje zawarte w podrozdziałach „*Comparison between MHC classes*” i „*Asymmetry of MHC introgression*”, szczególnie, że tutaj sprzeczne wyniki dały testy zmienności klinalnej genomowej i geograficznej.

Pewnym problemem może być również niedokładne oszacowanie zmienności ogólnogenomowej w przypadku niewielkiej liczby użytych markerów. Szczególnie w przypadkach zastosowania kilkunastu loci mikrosatelitarnych czy tylko kilkudziesięciu loci SNP w porównaniu z setkami i tysiącami zastosowanymi w innych. Dalej, dla nornic analizowany były inne exony genów MHC niż w przypadku pozostałych par gatunków. Oczywiście zdaję sobie sprawę z ograniczeń jakie niesie użycie danych powstałych dla innych celów, jednak to wszystko, w trudny do określenia sposób, mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki.

Pomimo uwag krytycznych bardzo wysoko oceniam naukową jakość rozprawy, do czego odnoszę się jeszcze w uzasadnieniu oceny końcowej. Co niezwykle ważne, autor rozprawy z jednej strony jest świadomy ograniczeń, które mogą mieć wpływ na uzyskane wyniki, a drugiej wykorzystuje je by stawiać kolejne pytania i proponować nowy kierunek działań. Mnie nasuwa się pomysł na badania w którymś z zaprezentowanych systemów, gdzie można by wykorzystać zebrane dane i sprawdzić jak warianty MHC uzyskane w procesie introgresji zmieniają swoje frekwencje w czasie i czy może to być związane z presją konkretnych patogenów występujących w populacji, a dalej czy te konkretne warianty mogą wpływać na cechy bezpośrednio określające dostosowanie.

3. Poprawność redakcyjna rozprawy

Trzy główne rozdziały poprzedzone są abstraktem i streszczeniem w języku polskim. Autor przygotował bardzo dobry tekst w języku polskim, co jest zwykle zadaniem trudnym w sytuacji gdy tematem są najnowsze trendy naukowe, a rodzime słownictwo nie podąża odpowiednio szybko za angielskim. Myślę, że lepiej by było pozostać przy określeniu „strefy mieszańcowe” a nie „hybrydowe” i unikać kalek językowych jak np.: „tło genetyczne gatunku rodzicielskiego”. Jednak takie drobne szczegóły nie zmieniają faktu, że tekst w wyjątkowo przystępny sposób prezentuje założenia rozprawy naukowej, zarówno jeśli chodzi o skomplikowanie samego systemu MHC jak i zaawansowanie warsztatu analitycznego. Bardzo pomocny jest tutaj schemat przedstawiający typy badanych populacji i założenia używanych testów. Doceniam również przejrzystość i wyjątkową jasność rozumowania przedstawioną w obu opublikowanych artykułach.

Zarówno w abstrakcie, streszczeniu jak i ogólnym wstępie autor podaje główny cel jakim było sprawdzenie częstości występowania adaptacyjnej introgresji genów MHC. Wydaje mi się, że należałoby położyć większy nacisk na znaczenie tego mechanizmu a nie na samą częstość. Brakuje mi również spójnego akapitu, który określiłby bardziej szczegółowe cele całej rozprawy, szczególnie, że są one podane w opublikowanych artykułach i manuskrypcie. Prezentując zastosowane testy i warto by było podać również jakie konkretne założenia testują i co potencjalnie mogą wykazać.

Pewien kłopot sprawiło mi również zorientowanie się czego dotyczy umieszczony na samym końcu pracy spis literatury – dotyczy on ogólnego wstępu, więc chyba warto by było umieścić go zaraz po tej części.

Mimo przytoczonych wyżej uwag tekst całej rozprawy czyta się z przyjemnością. Łatwo podążać za kolejnymi analizami pomimo ich zaawansowania metodycznego i mnogości mechanizmów mogących wyjaśnić uzyskanie wyniki.

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

Z bardzo dużą przyjemnością i zainteresowaniem przeczytałam rozprawę doktorską Pana mgr Tomasza Gaczorka. W mojej ocenie poziom naukowy pracy wykracza poza ten, jaki zwykle reprezentują rozprawy doktorskie. Trzy przedstawione rozdziały są bardzo spójne i każdy kolejny stanowi próbę coraz bardziej szczegółowego zgłębienia tematu. Metody badawcze zostały zaprojektowane w niezwykle przemyślany sposób, co pozwoliło, w miarę możliwości, przewyciężyć problemy jakie niesie ze sobą badanie skomplikowanego systemu jaki stanowią geny MHC. Zaplanowanie badań w sposób, który pozwolił bez wątpliwości rozróżnić między różnymi

mechanizmami utrzymującymi te same warianty MHC u spokrewnionych gatunków pozwoliło na wykazanie, że introgresja adaptacyjna stanowi ważny mechanizm kształtowania się i utrzymywania wysokiego poziomu zmienności genów MHC. Zjawisko to zostało udowodnione w sposób bezpośredni po raz pierwszy, a zaprezentowane wyniki z pewnością wnoszą ważny wkład w ciągle toczącą się debatę na temat mechanizmów ewolucyjnych kształtujących zmienność tej specyficznej grupy genów. Biorąc pod uwagę powyższe argumenty wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Tomasza Gaczorka.

Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Tomasza Gaczorka 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. zmianami) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgr Tomasza Gaczorka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

07.09.2023

data sporządzenia recenzji



Podpis jest prawidłowy

Dokument podpisany przez
Aleksandra Białczyńską
Data: 2023.09.07 13:42:26 CEST

.....
podpis recenzenta