

dr hab. Aneta Słomka, prof. UJ
Instytut Botaniki
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel. 12 664 50 20
email: aneta.slomka@uj.edu.pl

Kraków, 08.09.2025 r.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Dany Trunovej

**pt. "Repetitive DNA sequences and the evolution of
the *Brachypodium* genus"**

wykonanej pod kierunkiem

dr hab. Bożeny Kolano, prof. UŚ (promotor pracy doktorskiej)

**oraz dr Natalii Borowskiej-Żuchowskiej (promotor pomocniczy pracy
doktorskiej)**

Wydział Biologii

Instytut Botaniki

1. Tematyka rozprawy

Przedstawiona do oceny praca wnosi ogromny wkład w rozwój wiedzy w zakresie szeroko pojętej ewolucji roślin, nie tylko modelowego rodzaju *Brachypodium* (kłosownica), który był obiektem badań. Wyniki z zakresu genomiki ewolucyjnej, cytogenetyki molekularnej pozwalają na zrozumienie, jak powtarzalne sekwencje DNA kształtują ewolucję i różnorodność genomów roślinnych. Praca porusza takie zagadnienia jak: 1. reorganizacja genomu po poliploidyzacji - zrozumienie, jak genomy przodków (*B. distachyon* i *B. stacei*) zmieniają się i ewoluują po połączeniu, 2. dynamika powtarzalnego DNA - jak retrotranspozony (*Ty3/gypsy*, *Ty1/copia*) i satelitarne DNA wpływają na wielkość i strukturę genomu w rodzaju *Brachypodium*, 3. droga ewolucji *B. mexicanum* – unikatowa ze względu na ekstremalne namnożenie powtarzalnego DNA (retrotranspozonów *Ty3/gypsy*), gatunkowo-specyficzny zestaw satelitarnego DNA (satDNA) oraz unikalne profile trawienia enzymem restrykcyjnym sekwencji 5S rDNA.

2. Wiedza kandydatki

Z przedstawionego wstępu wynika, że Doktorantka bardzo dobrze zna ogólne mechanizmy ewolucji chromosomów i genomów, rodzaje i ewolucję powtarzalnego DNA. Nieco brakuje mi natomiast nakreślenia tych zjawisk w kontekście dotychczasowej wiedzy na temat badanego rodzaju. Informacje na temat stanu wiedzy z zakresu sekwencji powtarzalnych w rodzaju przedstawione są lakonicznie (niecałe dwie strony) i trudno wnioskować, czy wynika to z tego, że są one nieliczne, czy z tego, że zostało to tak przedstawione. Bo przecież w tym skrótowym opisie Doktorantka wspomina o ogólnej zawartości sekwencji powtarzalnych, dominacji LTR-retrotranspozonów nad innymi sekwencjami rozproszonymi, o satDNA w centromerach, liczbie loci rDNA czy dominacji jądrowej u *Brachypodium*. Wydaje mi się, że o ogólnych mechanizmach ewolucji chromosomów i genomów, rodzajach i ewolucji powtarzalnego DNA lepiej było wspomnieć przy okazji omawiania

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel.: 12 664 67 95

sekretariat.ib@uj.edu.pl

www.ib.uj.edu.pl



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

aktualnego stanu wiedzy w rodzaju *Brachypodium*, niż odwrotnie. Chodzi zatem tylko o inne położenie akcentów. Pragnę tym samym podkreślić, że powyższa uwaga odnosi się do konstrukcji rozdziału wstęp, nie do jego treści. Dobór treści w tej sekcji jest bowiem właściwy, tekst napisany doskonałym naukowym językiem, pozbawiony błędów merytorycznych.

W oparciu o zawartość dyskusji, można stwierdzić, że wiedza Autorki wykracza daleko poza wiedzę ogólną i jest wysoce specjalistyczna. Doktorantka niezwykle umiejętnie osadza uzyskane wyniki w szerokim kontekście naukowym. Dyskusja jest niezwykle dojrzała i świadczy o ponadprzeciętnych, jak na ten etap kariery naukowej, kompetencjach Doktorantki. Nie ogranicza się bowiem Ona do opisu, ale łączy swoje odkrycia z kluczowymi hipotezami w biologii ewolucyjnej i genomice. Przywołuje i odnosi się do takich koncepcji jak hipoteza "szoku genomowego", ewolucja zespołowa (ang. *concerted evolution*), hipotezy "narodzin i śmierci" czy „biblioteki”. Świadomość unikatowości *B. mexicanum* oraz wyjątkowej dynamiki rDNA u *B. hybridum* świadczą o tym, że ma Autorka szeroką wiedzę na temat innych gatunków roślin.

Wydział Biologii

Instytut Botaniki

3. Samodzielność kandydatki

Przedstawiona do oceny praca obejmuje 102 strony A4 oraz dodatkowo suplementy w postaci wieloautorskiej odbitki publikacji, w której Doktorantka jest pierwszym autorem oraz oświadczeń wybranych współautorów i Doktorantki dotyczących udziałów w powstaniu publikacji. Z oświadczeń jasno wynika, że Doktorantka jest autorem wiodącym odpowiadającym za przeprowadzenie badań w ramach tzw. *wet lab-u* oraz analiz bioinformatycznych, w tym *in silico*, a także odpowiadającym za interpretację wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Przy opracowywaniu wyników badań, zwykle naukowcom najwięcej problemów sprawia dyskusja. Szczęśliwie, nie w tym przypadku. Dyskusja w pracy doktorskiej Pani mgr Dany Trunovej w bardzo dużym stopniu koresponduje z postawionymi celami i hipotezami. Cała struktura tej sekcji jest tak zaprojektowana, aby podsumować i omówić wyniki w kontekście postawionych celów badawczych. Doktorantka wskazuje na ograniczenia swoich własnych badań (np. użycie współczesnych diploidalnych gatunków jako odpowiedników wymarłych przodków), co świadczy o dojrzałości naukowej.

Badania zostały starannie zaplanowane, czego dowodem jest schemat zamieszczony na stronie 26, który w sposób logiczny obrazujący kolejne, integralnie powiązane ze sobą etapy badań. Poprawność naukowa to wyróżniająca cecha tej pracy – jasne cele i hipotezy, adekwatne metody zastosowane na obszernym materiale biologicznym (tj. analizy bioinformatyczne, sekwencjonowanie, Fluorescencyjna Hybrydyzacja *in situ* po wcześniejszym opracowaniu sond, Hybrydyzacja Southerna), spójna dyskusja.

ul. Gronostajowa 3

30-387 Kraków

tel.: 12 664 67 95

sekretariat.ib@uj.edu.pl

www.ib.uj.edu.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

4. Oryginalność rozprawy

Rozprawa prezentuje unikalne, nowe dane oparte o aż 18 genotypów należących do 12 spośród 20 gatunków, co stanowi ponad połowę gatunków rodzaju *Brachypodium*. Badania zmieniają lub precyzują wcześniejsze modele ewolucyjne. Za oryginalnością rozprawy przemawiają:

1. Wykazanie zjawiska diploidyzacji u starszego genotypu Bhyb26 *B. hybridum*.
2. Zidentyfikowanie i scharakteryzowanie nowych rodzin satelitarnego DNA, np. CentBp u prawie wszystkich wieloletnich gatunków *Brachypodium*.
3. Opisanie jednorodzicielskiej eliminacji 5S rDNA i powstanie nowego 5S rDNA NTS (nietranskrybowana sekwencja w pobliżu 5S rDNA), co jest rzadko spotykane i czyni *B. hybridum* cennym modelem do dalszych badań.
4. Wykazanie międzygenomowej translokacji retrotranspozonów Ty3/gypsy Tat/Retand z subgenomu *B. distachyon* na subgenom *B. stacei*. Tak szczegółowe mechanizmy nie były wcześniej opisane w literaturze dotyczącej *Brachypodium*.

Wydział Biologii

Instytut Botaniki

Doktorantka pozyskała ogrom informacji dzięki wykorzystaniu narzędzia obliczeniowego RepeatExplorer2, które umożliwiło identyfikację, klasyfikację oraz ustalenie frekwencji wszystkich rodzin powtarzalnego DNA w analizowanych genomach. Przez to poziom szczegółowości opisu wyników, zwłaszcza z analiz bioinformatycznych, jest ogromny, w wielu miejscach przerastający możliwości kojarzeniowe czytelnika. Dlatego miejscami brakuje w wynikach takich podsumowań jak np. na stronie 54 (ostatni akapit). Złożone, wieloelementowe ryciny, w liczbie 31, przygotowane są bardzo profesjonalnie, tylko czasem czcionka jest zbyt mała i może warto byłoby dodać (dla ułatwienia odbioru) stopnie ploidalności poszczególnych gatunków, na szczególnie tych rycinach, na których Autorka odnosi się do wielkości genomu. Jakość i czytelność zdjęć, obrazujących wyniki Hybrydyzacji Southerna jak i Fluorescencyjnej Hybrydyzacji *in situ* (FISH) jest imponująca. Bardzo cenne jest, że dokonano weryfikacji wyników analiz bioinformatycznych poprzez zastosowanie właśnie tych technik, co pozwoliło m.in. na wizualizację powtórzeń na chromosomach i zwiększyło wiarygodność badań. Zachęcam Doktorantkę do publikowania pozostałych wyników badań. Z całą pewnością zasługują one na to by zapoznało się z nimi szersze grono odbiorców.

5. Pytania, na które recenzentka oczekuje odpowiedzi kandydatki w czasie obrony

1. Czy znane są fenotypowe konsekwencje utraty loci rDNA u *Brachypodium*? Czy redukcja liczby genów rybosomalnych wpływa na wigor, rozwój lub przeżywalność starszego allopoliploida *B. hybridum* w porównaniu z młodszym?

ul. Gronostajowa 3

30-387 Kraków

tel.: 12 664 67 95

sekretariat.ib@uj.edu.pl

www.ib.uj.edu.pl



2. Wydaje się, że eliminacja sekwencji powtarzalnych loci 35S i 5S rDNA u starszego genotypu *B. hybridum* wiązana jest przez Autorkę z wyciszeniem epigenetycznym lub z procesami rekombinacyjnymi. Czy widzi Doktorantka potencjalny związek tych eliminacji z działaniami endonukleaz? I jeśli tak, jakie badania można zaplanować, aby to sprawdzić?
3. Czy według Doktorantki dynamika powtórzeń stwierdzona u *Brachypodium* jest unikalna dla tego rodzaju, czy może być traktowana jako ogólny model ewolucji powtarzalnego DNA u traw, a może nawet u innych poliploidalnych roślin?
4. Czy są dostępne skamieniałości *B. distachyon* i *B. stacei*, które pozwoliłyby na badania paleogenomiczne? Co takie badania mogłyby pokazać?
5. Czy w związku z tym, że dysponowano dla różnych gatunków różnej długości odczytami pochodzącymi z różnych platform sekwencjonowania (tabela str. 29), normalizowano wyniki czy tylko „obrabiano” uzyskane przez siebie wyniki, jak napisano na str. 30?
6. Uprzejmie proszę o sporządzenie uproszczonego (na potrzeby dydaktyczne) schematu obrazującego ewolucję sekwencji powtarzalnych w rodzaju *Brachypodium* i zaprezentowanie go podczas publicznej obrony jako podsumowanie.

Wydział Biologii

Instytut Botaniki

6. Ocena Końcowa

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska w pełni spełnia wymogi art. 187 ustawy z dnia 18 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2024 poz. 1571), zatem ja niżej podpisana zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie Pani mgr Dany Trunovej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Rozprawa doktorska Pani mgr Dany Trunovej znacząco przekracza przeciętny poziom rozpraw doktorskich w zakresie rangi i znaczenia rozwiązywanego problemu badawczego oraz jakości i zakresu przeprowadzonych badań. Doktorantka przebadła aż ponad połowę gatunków z rodzaju *Brachypodium*, zastosowała zaawansowane techniki z zakresu cytogenetyki molekularnej i genomiki ewolucyjnej, przeprowadziła skomplikowane analizy bioinformatyczne, dzięki czemu rozprawa prezentuje wyjątkowe walory poznawcze w zakresie ewolucji genomu roślinnego, w szczególności w odniesieniu do sekwencji powtarzalnych.

ul. Gronostajowa 3

30-387 Kraków

tel.: 12 664 67 95

sekretariat.ib@uj.edu.pl

www.ib.uj.edu.pl



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Mając na względzie powyższe, zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Dany Trunovej stosowną nagrodą.

Z poważaniem

Wydział Biologii

Instytut Botaniki

ul. Gronostajowa 3

30-387 Kraków

tel.: 12 664 67 95

sekretariat.ib@uj.edu.pl

www.ib.uj.edu.pl