

dr hab. inż. Stefan Stojalowski
Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny
ul. Słowackiego 17
71-434 Szczecin

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr **Mateusza Dydy** pt.
**„Lokalizacja rejonów QTL związanych z odpornością/tolerancją pszenżyta
(*x Triticosecale* Wittm.) na porażenie mączniakiem prawdziwym (*Blumeria graminis*)”**

Badania opisane w rozprawie mgr Mateusza Dydy dotyczą poszukiwań genów pszenżyta odpowiedzialnych za odporność lub podatność tego zboża na rozwój infekcji wywoływanej przez patogen *Blumeria graminis*. Patogen ten powoduje u pszenżyta i innych spokrewnionych z nim zbóż chorobę zwaną mączniakiem prawdziwym, co prowadzi do znaczących strat gospodarczych w Polsce i innych krajach naszej strefy klimatycznej. Pojawianiu się choroby sprzyja wilgotna i niezbyt ciepła pogoda w okresie wegetacji. Pszenżyto, to nowy gatunek, a właściwie cały rodzaj (*x Triticosecale*) wśród roślin zaliczanych do rodziny wiechlinowatych (*Poaceae*). Jego historia ewolucyjna ma początek w latach 80-tych XIX wieku, a powstanie różnych form należących do tego rodzaju było wydatnie wspomagane przez człowieka. Pracom tym przyświecał bardzo praktyczny cel – stworzenie gatunku zboża, który będzie w sobie łączył zalety dwóch popularnych w Europie zbóż: pszenicy i żyta. Po około 100 latach prac hodowlanych nad różnymi wariantami pszenżyta, pojawiły się (przy dominującym udziale polskich hodowców) odmiany uprawne pszenżyta heksaploidalnego wtórnego, które zyskały sobie uznanie rolników. Tym samym nowy gatunek trafił na pola uprawne i stał się nowym elementem ekosystemów, głównie w Europie, ale też i w innych regionach świata. Aktualnie w Polsce pszenżyto zajmuje pod względem powierzchni zasiewów drugie miejsce wśród roślin uprawnych. Pola uprawne są ekosystemami regulowanymi w dużym stopniu przez człowieka, w których znaczącą rolę pełnią jednak gatunki naturalnie występujące w środowisku – chwasty, patogeny, szkodniki i wiele innych. Pszenżyto wprowadzone do masowej uprawy w latach 80-tych XX wieku, początkowo nie miało zbyt wielu wrogów naturalnych i było uważane za bardzo odporne na choroby. Wiemy teraz, że była to odporność pozorna, wynikająca z braku w środowisku patogenów wyspecjalizowanych w atakowaniu tego nowego gatunku. W pierwszej dekadzie XXI wieku zaczęły się pojawiać w naturze coraz liczniejsze patogeny, które stały się przyczyną chorób pszenżyta – początkowo zaczął się masowo pojawiać mączniak prawdziwy, w ślad za nim rdza brunatna, a ostatnio też rdza żółta i inne choroby. Jesteśmy więc świadkami ewolucji – natura odpowiedziała na naszą działalność i dostosowuje się do obecności nowego, wytworzonego przez człowieka gatunku, tworząc nieznane wcześniej rasy patogenów, a pszenżyto tworzy mechanizmy obrony przed tymi patogenami. Rzadko kiedy można taki ewolucyjny proces obserwować w czasie życia jednego człowieka. Dlatego badania podjęte przez mgr Mateusza Dydę uważam za ważne z punktu widzenia praktyki

rolniczej, ale też niezwykle interesujące od strony biologicznej. Z tego też powodu realizacja jego pracy doktorskiej w ramach nauk biologicznych jest moim zdaniem w pełni uzasadniona.

Praca doktorska została przygotowana w formie manuskryptu, którego zasadniczą część liczy 159 stron. Uzupełnieniem manuskryptu jest 21 stron suplementu zawierającego wyniki oceny fenotypowej badanych linii oraz płyta CD z aneksem do pracy, w którym autor umieścił dane o segregacjach markerów molekularnych wchodzących w skład map genetycznych badanych populacji.

Układ pracy jest typowy dla prac o charakterze eksperymentalnym i w pełni poprawny. Manuskrypt zawiera następujące rozdziały: Lista skrótów, Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja wyników, Wnioski, Streszczenie (w j. polskim) i Abstract będący tłumaczeniem streszczenia na j. angielski oraz Spis literatury. Całość podzielona jest na podrozdziały ujęte w Spisie treści, co bardzo ułatwia odnajdowanie interesujących rozdziałów w manuskrypcie. Materiał dokumentacyjny pracy stanowi 25 rycin oraz 21 tabel - czytelnych i wykonanych z dużą starannością.

„Wstęp” liczący 23 strony stanowi dość obszerny przegląd literatury i został przez autora podzielony na siedem części, wśród których znalazło się na początku Wprowadzenie, a na końcu Podsumowanie oraz pięć podrozdziałów, które zaznajamiają czytelnika z badanym patogenem, badaną rośliną uprawną, ogólnymi mechanizmami odporności roślin na choroby, szczegółami dotyczącymi odporności na mączniaka u gatunków rodzicielskich pszenżyta i z informacjami o rodzajach markerów molekularnych oraz ich wykorzystaniem przy konstruowaniu map genetycznych i identyfikowaniu *loci* cech ilościowych (QTL).

Cel pracy został na wstępie określony w formie ogólnej, co pozwala na zapoznanie się z obszarem zainteresowań badawczych autora, a następnie został doprecyzowany w postaci trzech konkretnych punktów. Dwa pierwsze pozwalają jednoznacznie ocenić, czy autor założone cele w czasie wykonywania pracy doktorskiej osiągnął. Trzeci punkt jest sformułowany w sposób moim zdaniem dyskusyjny, o czym poniżej.

Rozdział „Materiał i metody” zawiera jedenastostronicowy opis badanego materiału i stosowanych metod, zarówno tych dotyczących fenotypowania w warunkach polowych, jak i wszystkich analiz o charakterze laboratoryjnym oraz metod użytych do analizy danych. Opis jest w zasadzie poprawny, ale można by było go nieco udoskonalić (doprecyzować). Kilka uwag do tego rozdziału: Na stronie 34 jest pewien rozdzźwięk między opisem skali 9-stopniowej, a ryciną 2 – w opisie do wartości skali 1 przypisane jest całkowite porażenie (w domyśle 100%), a na rycinie jest to powyżej 50% powierzchni. Szkoda, że w tabeli 3 nie zostały uwzględnione przy datach oznaczeń również fazy rozwojowe BBCH, o których autor pisze w tekście, a w tabeli 4 nie podano długości grup sprzężeń w cM. Na stronie 36 pojawia się informacja o wernalizacji roślin przeznaczonych do pobierania liści, z których izolowano DNA. Znaczenie tego zabiegu jest dla mnie niezrozumiałe, a wyjaśnień brakuje. Na stronie 37 najpierw pojawia się informacja o pobieraniu do próbówki tkanki o masie 90-100mg, a w pkt. 2 procedury na tej samej stronie, buforem zalewano tylko 50mg zhomogenizowanej tkanki (?). Niezbyt jasno wyjaśniono na stronie 38 kwestie związane z markerami otrzymywanymi w czasie genotypowania populacji mapujących w firmie Diversity Arrays Technology, ale ten problem dotyczy nie tylko tego rozdziału, więc powrócę do niego w dalszej części recenzji. Nie jest jasne, czemu przy procedurze CIM (str. 41) wykonywano analizę permutacji, skoro

jej wynik nie był brany pod uwagę przy wyznaczaniu krytycznego poziomu istotności LOD i przyjęto stałą wartość równą 2,5.

Wyniki zostały opisane na 68 stronach i stanowią najobszerniejszy rozdział w pracy. W pierwszej części opisu, poza wynikami badań mikroskopowych, znalazł się opis nowej mapy genetycznej pszenżyta skonstruowanej przez autora. Utworzenie nowej, obejmującej wszystkie chromosomy, mapy genetycznej gatunku o tak złożonym genomie, uważam za istotne osiągnięcie autora. Długości grup sprzężeń są dość duże i najpewniej przeszacowane, ale identyfikacja chromosomowa grup nie budzi wątpliwości. Trochę szkoda, że w tabeli 5 (podobnie, jak we wspomnianej powyżej tabeli 4) nie znalazła się informacja o długościach map w cM. Przy opisie wyników oceny fenotypowej nieco zbyt kategoryczne wydaje mi się stwierdzenie autora zawarte na str. 61, że „Rozkłady... były rozkładami normalnymi” – autor nie stosował testu zgodności, a użyte przez niego metody pozwalały co najwyżej na stwierdzenie, że nie było statystycznych podstaw do odrzucenia hipotezy o normalnym rozkładzie cech. Fakt, że nie mamy podstaw do odrzucenia pewnej hipotezy nie jest równoznaczny z tym, że mamy pewność, iż ta hipoteza jest prawdziwa. Wspominam o tym, gdyż zarówno zaprezentowane na rycinach 10-12 niektóre wykresy, jak i fakt, że cecha ma charakter skokowy (skala 9-stopniowa) nie działają na korzyść tak jednoznacznego stwierdzenia o zgodności z rozkładem normalnym.

Większość rozdziału „Wyniki” stanowi opis identyfikowanych QTLi (loci cech ilościowych). Tego rodzaju analizy są bardzo trudne w opisie – z reguły wyniki mapowania loci ilościowych dostarczają dużej ilości danych liczbowych, których opis staje się siłą rzeczy monotony i trudno w tej masie informacji znaleźć, a potem skutecznie naświetlić w pracy to, co jest najistotniejsze. Z reguły znaczna liczba QTLi jest identyfikowana tylko w pojedynczych środowiskach dla konkretnych genotypów, w związku z czym nie ma pewności, czy wskazany gen uległ sporadycznej aktywacji w wyniku specyficznej interakcji genomowo-środowiskowej, czy też jest to błąd powstały w trakcie analizy statystycznej (identyfikacja QTLi jest procesem matematyczno-statystycznym, a określenie lokalizacji genu cechy ilościowej jest oparte o rachunek prawdopodobieństwa). Mgr Dyda poradził sobie z opisem mapowania QTLi w sposób bardzo sprawny – najpierw przedstawił całość uzyskanych wyników. Ze względu na wysoką czułość zastosowanej metody identyfikacji QTLi (SMA) autor wskazał ponad 200 potencjalnych lokalizacji cech ilościowych. W dalszym postępowaniu mgr Dyda dokonał wartościowania wytypowanych QTLi stosując jako uzupełnienie metodę CIM, a następnie wskazując te loci w genomie, które były powtarzalne w różnych środowiskach i na końcu te, które były wspólne dla dwóch różnych genetycznie populacji mapujących. Dzięki temu czytelnik ma jednocześnie wgląd w całość zebranych danych, ale też informację o tym, które ze zidentyfikowanych regionów genomu pszenżyta zawierają geny związane w sposób powtarzalny z odpornością na mączniaka. Wszystko to zostało opisane w sposób przejrzysty, z podziałem na odpowiednie podrozdziały i opatrzone czytelnymi rycinami oraz tabelami.

„Dyskusja wyników” liczy 17 stron maszynopisu i zgodnie z założeniami zawiera konfrontację uzyskanych wyników z danymi dostępnymi w literaturze naukowej. „Dyskusja” podzielona została przez autora na 8 podrozdziałów. Treści pierwszego z nich – „5.1. Realizacja celów pracy” mogłyby moim zdaniem zostać z powodzeniem przeniesione do ostatniego: „5.8. Podsumowanie”. Ogólnie treść „Dyskusji” należy przyjąć za poprawną, ale

w moim odczuciu w pewnych fragmentach autor z takim zaangażowaniem zaczyna snuć rozważania nad własnymi wynikami, że zapomina o odniesieniach do literatury naukowej. Podrozdział 5.5 (Ocena stopnia porażenia pszenżyta mączniakiem prawdziwym) nie zawiera żadnego takiego odniesienia. Ostatnim podrozdziałem „Dyskusji wyników” jest „Podsumowanie”. Po połączeniu z podrozdziałem 5.1. stanowiłoby ono dobre wprowadzenie do Wniosków i być może wpłynęło na ich ostateczną formę.

Wnioski zostały sformułowane w postaci 7 punktów. Stanowią one podsumowanie pracy, ale w moim odczuciu pozostawiają niedosyt. Oczekiwałam tu od autora może mniej licznych, ale bardziej konkretnych odniesień do podanych celów pracy i konkretnych wyników, które zostały uzyskane. Przykładowo: wniosek 1 jest dość banalny, a wniosek 7 jest bardzo mało konkretny. Pula markerów przywoływana we wniosku 7 nie jest aż tak liczna, żeby nie dało się ich policzyć, a na dodatek jest tu mowa o markerach, których przydatność trzeba będzie dopiero weryfikować w przyszłości, więc tak naprawdę nie wiadomo, czy będą przydatne w hodowli. W celach pracy autor zakładał m. in. konstrukcję nowej mapy genetycznej pszenżyta oraz lokalizację rejonów genomu zawierających QTL związane z odpornością. We wnioskach nie ma odniesień do skonstruowanej mapy, nie ma też informacji o chromosomowej lokalizacji tej grupy zidentyfikowanych QTLi, których nie udało się autorowi powiązać z konkretnymi genami odporności. Moim zdaniem to trochę szkoda, bo poza identyfikacją genów pochodzących od gatunków rodzicielskich pszenżyta, ważnym aspektem poznawczym pracy jest wskazanie regionów genomu pszenżyta, które mają związek z odpornością na mączniaka, a są lokalizacjami nowymi, nieznanymi u pszenicy i żyta.

W pewną konsternację wprowadziły mnie opisane przez autora analizy mikroskopowe rozwoju zarodników *Blumeria graminis*. Są one poprawnie opisane od strony metodycznej, w Wynikach znalazły się dobrej jakości zdjęcia mikroskopowe oraz ich opis, co musiało autora kosztować sporo pracy. Niestety w treści rozprawy brakuje informacji w jakim celu zostały wykonane te analizy i co z nich istotnego wynika. Co prawda autor wspomniał o tym zagadnieniu w „Dyskusji” sugerując, że uzyskane obrazy były typowe. Nie za wiele jednak z tych rozważań wynika, skoro nie wiadomo, czy autor oczekiwał, że będzie inaczej. W „Celach pracy” i we „Wnioskach” nie ma po tej części pracy żadnego śladu, czego trochę żałuję. Mam jednak nadzieję, że autor powie mi coś więcej na ten temat przy okazji obrony pracy.

Kończącą część pracy stanowi obszerny Spis literatury zawierający aż 246 pozycji (w większości anglojęzycznych) oraz 6 adresów stron internetowych. Przy tak obszernym zbiorze bibliograficznym trudno jest recenzentowi dysponującemu wyłącznie wersją drukowaną manuskryptu zweryfikować dokładnie poprawność wszystkich cytowań. Wśród zweryfikowanych przeze mnie pozycji, tylko dwie wzbudziły wątpliwości: na stronie 38 przy programie JoinMap podana jest pozycja Meng i in. (2015) dotycząca tak naprawdę programu QTL IciMapping zamiast pracy Van Ooijen (2006), która powinna być tu cytowana. Praca Shi i in. (1998) jest na stronie 125 przywołana z niewłaściwym rokiem opublikowania. Nie jestem jednak pewien, że zauważyłem wszystkie błędy.

Praca doktorska przygotowana przez mgr Mateusza Dydę sprawia w trakcie czytania bardzo dobre wrażenie. Jest napisana w sposób zrozumiały, jej układ jest czytelny, ryciny i tabele przejrzyste, ułatwiające zrozumienie złożonego zjawiska genetycznej odporności

badanej przez autora. Oczywiście, przy tak obszernym opracowaniu trudno uniknąć błędów. Zapewne nie wszystkie zdołałem wychwycić. Większość z tych, które wymieniam poniżej ma charakter edytorski, ale ich wyeliminowanie pozwalałoby na łatwiejsze skoncentrowanie uwagi czytelnika na meritum. W szczególności chodzi mi o te błędy redakcyjne, które wpływają na odbiór merytorycznych treści zawartych pracy. Pozwolę sobie na wskazanie tych, które najbardziej zwróciły moją uwagę.

Pierwszą nieścisłość zauważyłem już na drugiej stronie manuskryptu zawierającej informacje o finansowaniu badań. W tytule projektu badawczego zamiast „fonemiki” powinno być „fenomiki”, a fundatorem cytowanego projektu było nie Narodowe Centrum Nauki, tylko Narodowe Centrum Badań i Rozwoju. *Nota bene* – wśród logotypów wydrukowanych poniżej informacji jest logo właściwego Centrum.

W tabeli 2 na str. 22 wymienione są geny zlokalizowane na chromosomach należących do genomu D pszenicy zwyczajnej, ale wbrew tytułowi tabeli, w jej wnętrzu znalazł się gen Pm55 z chromosomu 5V (z genomu V pochodzącego od *Dasypyrum villosum*) – tym samym tytuł tabeli nie do końca jest zgodny z jej treścią.

Pewien brak precyzji daje się zauważyć w nomenklaturze markerów SNP w różnych częściach pracy. Już na stronie 25 pojawia się zdanie, że markery SNP „Służą również do identyfikacji mutacji punktowych”. Kolejność jest odwrotna: to mutacje punktowe służą do opracowania markerów SNP i w związku z tym rzeczywiście pozwalają je później identyfikować. Autor nie jest też konsekwentny przy stosowaniu skrótu e-SNP. Czasami jest on definiowany jako SNP z regionu ekspresji danego genu, a czasami jako zamiennik markerów silico-DArT, które też są miejscami określane jako DArTseq (por. tab. 20 vs. 21).

Nomenklatura markerów otrzymywanych w ramach analiz wykonywanych w ramach usług przez Diversity Arrays Technology Pty w Australii najwyraźniej stanowi dla autora problem. Metoda globalnej analizy zmienności genetycznej genomu określana jako DArT została opracowana pierwotnie jako technika hybrydyzacji na mikromacierzach. Markery używane przez mgr Mateusza Dydę w pracy, które oznaczano jako wPt, rPt i tPt pochodziły z takich właśnie analiz. To nie zostało w sposób jasny opisane w rozdziale Materiał i metody. W ślad za technikami mikromacierzowymi, została opracowana nowa metoda badania zmienności genetycznej, którą oparto o sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) – nowa metoda analiz została nazwana DArTseq. Pozwala ona na otrzymanie dwóch zbiorów danych – markery SNP (o charakterze kodominującym) oraz markery Silico-DArT (dominujące). Autor w pracy wykorzystał do konstrukcji mapy genetycznej wszystkie wymienione rodzaje markerów, ale ich charakterystyka w opisie metodycznym jest niestety nieprecyzyjna i dla czytelnika nieznającego metody nie będzie zrozumiała. Tym bardziej, że sam autor w jednej części pracy te same markery opatruje skrótami innymi niż kilka stron dalej (e-SNP vs. DArTseq).

Pewne wątpliwości może budzić spis cytowanych programów komputerowych wymienionych na stronie 29 jako przydatnych do lokalizowania QTL. Program JoinMap jest typowym programem do konstruowania map genetycznych i nie ma opcji identyfikowania QTLi – jego uzupełnieniem służącym do tego celu jest wymieniony przez autora program MapQTL tej samej firmy (Kyazma). Również program MapChart nie daje możliwości identyfikowania QTLi – służy raczej do wizualizowania danych uzyskanych z innych programów. Moje wątpliwości budzi też aktualność cytowania literatury przy programie

WinQTL Cartographer. Dziwi za to brak w tym zestawieniu programu, który autor stosował w pracy: QTL IciMapping (choć był on użyty w innym celu, ale autor miał okazję się z nim zaznajomić).

Cel pracy nr 3: „Wskazanie stabilnych w różnych środowiskach i latach oraz w różnym tle genetycznym markerów... do dalszego testowania...” – rodzi się wątpliwość: jeśli markery zostały określone jako stabilne (skuteczne) w różnych miejscowościach, w różnych latach i dla różnych genotypów, to po co mają być „dalej testowane”? Przecież już mamy markery, które działają w każdym roku, każdym miejscu i w odniesieniu do różnych genotypów. Czy czegoś więcej nam potrzeba? Odnoszę wrażenie, że przy formułowaniu tego celu pracy autor nie do końca precyzyjnie określił to, co zamierza osiągnąć i czemu ma to służyć w przyszłości.

W opisie Wyników oraz w Dyskusji autor niekonsekwentnie stosuje parametr związany z gęstością mapy (wysyceniem) – raz jest to wg niego liczba markerów na dystansie 1 cM, a w innych miejscach średni dystans w cM między dwoma markerami. Ten brak konsekwencji prowadzi do błędów, np. w tabeli 6 przypis c jest niezgodny ze znaczeniem wartości podanych we wnętrzu tabeli, a w tekście Dyskusji na stronie 112 są podane błędne wartości (co intrygujące - na kolejnej stronie dalsza część opisu zawiera poprawne dane, dowodząc, że wspomniane błędy wynikają z braku konsekwencji w stosowaniu parametrów charakteryzujących gęstość mapy).

W tabelach 11 i 17 tytuł wskazuje na informację o rejonach QTL (przedziałach), a wskazane są w tabeli konkretne pozycje w cM. Niektóre QTL są reprezentowane przez 2-3 markery o różnej pozycji, ale raczej nie należy tego traktować jako wartości granicznych przedziału. Najlepiej byłoby podawać zarówno przedział, gdzie QTL wykazuje statystyczną istotność, jak i pozycję markera najsilniej związanego z cechą. W przypisie d do w/w tabel nie podano, czy efekt addytywny jest liczony względem linii matecznej, czy ojcowskiej (różne programy różnie to liczą).

W podrozdziale 4.7 w oznaczeniach QTLi autor zamiennie stosuje skróty *HMGZ* i *GZHM* w tekście jest stosowana jedna forma, a w cytowanych tabelach 19 i 21 druga.

Od strony językowej praca jest napisana dobrze i jest zrozumiała, chociaż nie jest wolna od niedociągnięć. Na dwie problematyczne kwestie językowe chciałbym zwrócić szczególną uwagę autorowi.

1. Autor w tekście pracy dość często utożsamia pojęcie „odporność” z „brakiem oznak choroby”. Brak objawów chorobowych w danym miejscu i czasie nie oznacza jeszcze, że roślina była odporna. Mogło to wynikać po prostu z okresowego braku ognisk zakażenia. Co istotne, mgr Dyda zdaje sobie z tego sprawę, o czym świadczy opis ze strony 116 (Dyskusja wyników), dlatego traktuję to jako błąd językowy, a nie merytoryczny. Wątpliwości co do tego problemu byłoby mniej, gdyby w doświadczeniu polowym znalazł się rozmieszczony w wielu miejscach wzorzec w postaci bardzo wrażliwej odmiany/linii. Taki obiekt byłby wskaźnikiem, czy choroba występuje w danej lokalizacji i określonym terminie obserwacji, a jednocześnie stanowiłby dodatkowe ognisko zakażenia badanych obiektów.

2. Autor w wielu miejscach stosuje uproszczenie językowe związane z charakterystyką grup sprzężeń w obrębie genomów A, B i R. Na przykład - niepoprawne językowo jest wielokrotnie powtórzone stwierdzenie, że coś zidentyfikowano „na grupie sprzężeń A”.

Autorowi chodziło tak naprawdę o grupy sprzężeń tworzące mapy chromosomów należących do genomu A. Jest to skrót myślowy, którego znaczenie jest łatwe do zrozumienia, ale językowo nie jest poprawne, bo chodzi nie o jedną grupę A, ale o 7 grup tworzących mapy chromosomów 1A, 2A, 3A itd.

W rozprawie dostrzegłem też trochę innych drobnych błędów językowych. Nie wszystkie będę wymieniał, ale jako przykłady mogę podać następujące:

Tytuł rozdziału 4.4: „Fenotypowanie przebiegu infekcji...” – fenotypowanie, to określanie fenotypu jakiegoś obiektu, a „przebieg infekcji” to proces, który nie ma określonego fenotypu. Należałoby raczej napisać: „Obserwacje przebiegu infekcji...” lub „Fenotypowanie roślin ... w czasie infekcji”.

Trudno mi też zaakceptować poprawność sformułowania ze strony 125: „Gen Pm25 ... został zidentyfikowany trzema markerami RAPD...” – markery RAPD charakteryzują się małą specyficznością i w cytowanej pracy nie były samodzielnym czynnikiem sprawczym identyfikacji genu (a użycie w zdaniu narzędnika sugeruje, że tak było). Wymienione markery były jednym z istotnych narzędzi w bardziej złożonej analizie. Poprawne byłoby stwierdzenie, że „przy identyfikowaniu genu Pm25 użyto trzech markerów RAPD...”

Chciałem jednak podkreślić, że zarówno wymienione, jak i niewymienione przeze mnie niedociągnięcia językowe, miały charakter jednostkowy i nie wpływały na zrozumienie treści, które autor chciał przekazać.

Na zakończenie muszę podkreślić, że moja ogólna ocena pracy doktorskiej mgr Mateusza Dydy jest w pełni pozytywna. Większość moich komentarzy dotyczyła kwestii edytorskich i językowych, co nie wpłynęło na ocenę merytorycznej wartości rozprawy. Doktorant wykonał badania wymagające od niego opanowania różnorodnych metod: od zaplanowania doświadczeń polowych, poprzez wykonanie analiz laboratoryjnych, aż po złożoną analizę bioinformatyczną wyników. Wyniki jego kilkuletniej pracy naukowej zostały opisane w sposób zrozumiały i (co ważne) krytyczny. Oceniana rozprawa spełnia według mnie wymagania ustawowe wobec prac doktorskich (art.13 Ustawy z 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki). Stąd też wnioskuję do Rady Wydziału Geograficzno-Przyrodniczego Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie o dopuszczenie mgr Mateusza Dydy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Szczecin, 31.12.2018.

dr hab. inż. Stefan Stojalowski