

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Przemysława Piotr Tomczyka pt. "Zmienność fenotypowa, różnorodność genetyczna oraz reakcje epigenetyczne w relacji do poziomu ploidalności u *Festuca amethystina* L. i *F. tatrae* (Czakó) Degen (Poaceae)"

1. Wstęp

Przedstawiona do recenzji dysertacja doktorska została wykonana w Katedrze Biogeografii, Paleoekologii i Ochrony Przyrody UŁ pod kierunkiem dr hab. Marcina Kiedrzyńskiego i promotora pomocniczego dr Pawła Wąsowicza. Podstawą recenzji jest dokument liczący 165 stron, w tym obejmujący 32 strony odnośnie ogólnego celu badań, zastosowanej metodyki i syntetycznego przedstawienia uzyskanych wyników badań. Pozostała część dokumentu zawiera załączniki:

1. Kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wraz z materiałami uzupełniającymi i oświadczeniami współautorów (Załącznik 1,2,4).

2. Manuskrypt wchodzący w skład rozprawy doktorskiej z materiałami uzupełniającymi, oświadczeniem współautorów i potwierdzeniem z Journal of Biogeography o przesłaniu go do Redakcji (Załącznik 3).

3. Wydruk raportu Web of Science z dnia 24.04.2023r. r. na temat danych bibliometrycznych publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (Załącznik 5).

Układ rozprawy doktorskiej jest czytelny i pozwala na łatwe dotarcie do żądanej informacji.

Przedstawiony materiał faktograficzny jest wystarczający dla oceny merytorycznej rozprawy doktorskiej. Jego podstawą są trzy opublikowane publikacje oraz czwarta oddana do druku. W ten sposób spełniony jest formalny wymóg Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, według której rozprawa doktorska może przybrać postać "spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych, określonych przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki, jeżeli odpowiada warunkom określonym w ust 1." Czasopisma naukowe, w których doktorant publikował wyniki badań to: PeerJ i Scientific Reports. Spełniają one kryteria przedstawione w Ustawie.

W dwóch publikacjach doktorant był pierwszym autorem. Według deklaracji wypełnionych przez wszystkich autorów udział doktoranta w ich powstaniu wynosił 20 - 55%. Według deklaracji

autorów obejmował on zaprojektowanie i opracowanie eksperymentów oraz przygotowanie rycin i tabel. Na tej podstawie oceniam, iż wkład doktoranta w ich powstanie był znaczący i twórczy.

Według danych bazy Web of Science (12.08.2023) Pan P. Tomczyk jest współautorem 7 publikacji opublikowanych w latach 2018 - 2022 i cytowanych 1 - 6 razy. Baza Research Gate wykazuje 29 publikacji i 30 cytacji. Dane bibliometryczne nie wchodzą w zakres oceny i posiadają charakter informacyjny. Liczba cytowanych danych piśmiennictwa zawarte w tych pracach mieści się w granicach 54 - 72 pozycji, a ich merytoryczne użycie nie budzi wątpliwości. Ocenę tę opieram na fakcie, iż znalazły się w publikacjach w renomowanych czasopismach naukowych, w których zagadnienie piśmiennictwa zostało pozytywnie zweryfikowane przez kompetentnych recenzentów.

Na podkreślenie zasługuje uzyskanie i kierownictwo przez doktoranta 3 grantów, udział w licznych konferencjach krajowych i zagranicznych oraz uzyskanie wielu wyróżnień i nagród dla młodych naukowców uzyskanych w latach 2017 - 2019.

2. Ocena celu pracy

Celem badań wchodzących w skład dysertacji było określenie relacji taksonomicznych i genetycznych pomiędzy cytotypami gatunku trawy *Festuca amethystina* na tle gatunku bliźniaczego *Festuca tatrae*. Badania dotyczyły określenia różnic morfologicznych pomiędzy badanymi gatunkami, wykazanie istnienia gatunkowych markerów genetycznych oraz test hipotezy związku pomiędzy postglacjalną dynamiką migracji i przepływie genów między populacjami. Doktorant zajął się również hipotezą głoszącą, iż zmienność alleliczna jest większa u poliploidów, w porównaniu do diploidów.

Obydwa gatunki traw należą do elementu górskiego. *F. amethystina* posiada wtórne siedliska niżowe, w Polsce spotykane przede wszystkim w subkontynentalnej dąbrowie świetlistej. Drugi gatunek jest endemitem tatrzańskim. Obydwa gatunki z punktu widzenia ewolucji i biogeografii historycznej są niezmiernie interesujące. O ile *F. tatrae* jest reliktowym diploidem, to *F. amethystina* posiada dwa cytotypy: diploidalny i tetraploidalny. Istnienie cytotypów gatunku umożliwiło sformułowanie hipotez odnośnie roli poliploidalności w reakcji epigenetycznej gatunku na stres środowiskowy.

W mojej ocenie najbardziej interesującym (i trudnym) jest wątek reakcji epigenetycznej organizmu roślinnego na stres środowiskowy. Jest to tak zwana plastyczność fenotypowa lub norma reakcji tworząca efekt fenotypowy. Zdecydowana większość badań została przeprowadzona na modelowych roślinach, zwłaszcza *Arabidopsis*, i bardzo niewiele wiadomo o większości roślin w ich naturalnym środowiskach i ich reakcji na zmiany w ich środowisku. Jako organizmy stacjonarne,

muszą sobie radzić ze zmiennymi warunkami środowiska dostosowując swoją fizjologię (a często morfologię, na przykład *Sagittaria sagittifolia* strzałka wodna) do różnic siedliskowych. Reakcja epigenetyczna zachodzi na poziomie genomu, nie wywołując jednak jego zmian strukturalnych. Jest to raczej zmiana na poziomie przetwarzania informacji wewnętrznej w reakcji na bodźce pochodzące z cytoplazmy (rozpatrując zagadnienie na poziomie komórkowym). Zasadniczo nie są znane szlaki przepływu bodźców uruchamiających reakcję epigenetyczną, znane natomiast i wciąż poznawane są ich skutki.

Wymienia się tu przede wszystkim takie mechanizmy jak metylacja DNA, acetylowanie histonów, zmiany struktury chromatyny i wpływ transpozonów (Tomczyk 2019). W przypadku metylacji zakłada się, że im bardziej DNA jest hipermetylowany, tym mniej genów jest aktywowanych, a więcej wyciszanych. Doktorant poszerzył tę hipotezę zakładając, iż poziom metylacji (epigenetycznej reakcji na stres) uzależniony jest poziomu ploidalności i pochodzenia geograficznego. W tym przypadku należy dodać uściślenie, że autor nie badał zależności nie tylko pochodzenia geograficznego, lecz także zróżnicowania klimatyczno-siedliskowego (las nizinny, las podgórski, łąka subalpejska). W przypadku poziomu ploidalności przyjęto hipotezę, że wyższy poziom ploidalności związany jest z wyższym poziomem metylacji.

Cele pracy oceniam jako bardzo interesujące i wiele wnoszące do poznania mechanizmów zmienności wewnątrz- i międzygatunkowej w relacji do zmienności siedliskowej. Zapewne część adaptacji można wytłumaczyć istniejącą wcześniej zmiennością genetyczną w populacjach, jednak modyfikacje epigenetyczne przyczyniają się do stabilności i przetrwania roślin w ich naturalnym środowisku. Znajomość normy reakcji w naturalnych populacjach jest szczególnie istotna w kontekście globalnej zmiany klimatu. Należy podkreślić bardzo trafny dobór materiału badawczego: dwóch blisko spokrewnionych gatunków, z których jeden jest diploidem, a drugi posiada 2 cytotypy: diploidalny i tetraploidalny.

3. Ocena metodyki

Doktorant wykorzystał w badaniach oryginalny materiał roślinny pochodzący z obszaru naturalnego występowania populacji badanych gatunków. Zastosowano metody pomiaru zmienności morfologicznej, genetycznej (markery mikrosatelitarne SSR, jądrowy ITS), poziomu ploidalności metodą przepływową oraz w pracy nieopublikowanej modelowanie niszy ekologicznych. Zmierzono ogólną reakcję epigenetyczną. Obliczono wskaźniki zróżnicowania genetycznego, a uzyskane wyniki poddano analizom numerycznym i statystycznym. Zaawansowane genetyczne i cytogenetyczne badania laboratoryjne przeprowadzili zaproszeni do projektu kompetentni

wykonawcy. Wyniki przedstawiono tabelarycznie i w postaci czytelnych rycin otrzymanych przy użyciu metod graficznych dostępnych w pakietach statystycznych R i Statistica PL. Zebrany w szerokim zakresie geograficznym materiał roślinny uprawiano w warunkach ogrodu.

Poprawność zastosowanej metodyki badań nie podlega żadnej dyskusji. Opinię tę wnioskuję na podstawie faktu, iż wyniki badań zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych, gdzie zagadnienie to podległo wnikliwej ocenie recenzentów.

4. Ocena wyników

Przechodzę do najbardziej interesującej części rozprawy doktorskiej. Uwagę skoncentruję przede wszystkim na rezultatach opublikowanych, jedynie posiłkując się wynikami przesłanymi do *Journal of Biogeography*. Zakładam, iż w tym względzie praca nie uzyskała ostatecznego kształtu, chociaż jej wyniki są interesujące i poszerzające wiedzę o historii polodowcowej gatunków górskich.

Zanim przejdę do rozważań szczegółowych pragnę podzielić się refleksją o charakterze ogólnym. Mam na myśli znaczenie ewolucyjne zmian epigenetycznych. Doktorant skłania się ku tezie, o ile dobrze zrozumiałem intencje, iż zmiany epigenetyczne, jako dziedziczne, mogą być czynnikiem dostosowania (*fitness*) i poszerzenia niszy ekologicznej. Co prawda w literaturze istnieją doniesienia o stabilności (utrwaleniu) w kolejnych pokoleniach zmiany epigenetycznej, jednak moim zdaniem teza ta nie jest dostatecznie udokumentowana, gdyż nie wiadomo, czy nie ustąpi po zaprzestaniu działania bodźca środowiskowego. Jest to jedynie szczególna postać zmienności, lecz prawdopodobnie nietrwała, tworząca zjawisko "pamięci epigenetycznej". Co istotne, tak postawione zagadnienie implikuje, iż zmiana epigenetyczna nie różni się w istocie od zmiany klasycznej o charakterze mutacyjnym. Istotą bowiem koncepcji plastyczności fenotypowej jest jej odwracalność. Dziedziczenie cechy epigenetycznej posiada zatem w tym ujęciu cechę o charakterze zmiany mutacyjnej. Wydaje mi się w tym aspekcie bardziej stosowne jest ujmowanie zagadnienia w aspekcie ewolucji ewolualności. Ewolualność to zdolność układu biologicznego do wytwarzania zmienności fenotypowej, która jest zarówno dziedziczna, jak i adaptacyjna (Payne, Wagner 2019).

Po tej ogólnej, dyskusyjnej uwadze przechodzę do skrótowego, krytycznego omówienia wyników. Co prawda są one już opublikowane i ich zawartość nie powinna budzić wątpliwości co do poprawności metodycznej i merytorycznej. Jednak niektóre kwestie wydają się być interesujące i warte omówienia.

W pracy z 2018 r. autorzy zajęli się zagadnieniem odrębności morfologicznej cytotypów *F. amethystina*. W tym celu zbadano 39 okazów diploidalnych i 34 tetraploidalnych, których stopień

ploidalności określono na podstawie cytometrii przepływowej. Potwierdzona została reguła głosząca, iż tetraploidy osiągają większe rozmiary fizyczne niż diploidy. Szczegółowe badania makrometryczne i mikrometryczne (przekroje liści) ujawniły, iż cytotypy w przestrzeni cech opisanych przez składowe PCA tworzą kontinuum zmienności. Jednak cechy makrometryczne (za wyjątkiem jednej) oraz wszystkie mikrometryczne dotyczące przekroju liścia, znakomicie dyskryminują cytotypy gatunku. W konkluzji autorzy stwierdzają, iż bardziej pomocne w wydzieleniu zmienności są cytotypy niż podgatunki. Uwaga ta dotyczy obecnie istniejącego klucza.

W pracy zauważam brak zbiorczej tabeli, która przyporządkowałaby zmienność taksonomiczną (cztery podgatunki) zmienności cytogenetycznej. *Table 2* zamieszczona w pracy informuje co prawda, że kluczowe cechy nie "pracują" u wyróżnionych taksonów, jednak informacja ta jest szczegółowa i dotyczy oznaczeń w poszczególnych populacjach. Moim zdaniem powinna być uzupełniona o zbiorczą analizę w postaci analizy dyskryminacyjnej, lasu losowego (*random forest*), krzyżowego sprawdzania (*cross-validation*) lub innej techniki statystycznej. Jest to brak z punktu widzenia taksonomii linneuszowskiej dotkliwy, gdyż nie odpowiada na pytanie, na ile zmienność cytogenetyczna kompleksu odpowiada dotychczasowym wyróżnieniom. Zapewne klucz trzeba będzie opracować na nowo, zgodnie z konkluzją wyrażoną w pracy: "*As we have indicated in the case of F. amethystina, intraspecific variation based on morphological traits should be updated. We have shown that the previous key is not working*". Szkoda, że na podstawie uzyskanych danych nie sporządzono klucza poprawionego.

W pracy z 2020 r. autorzy pogłębili zagadnienie zmienności międzygatunkowej blisko spokrewnionych gatunków na podstawie analizy genetycznej loci mikrosatelitarnych. Podobnie, jak w pracy poprzedniej, poziom ploidalności został potwierdzony na podstawie cytometrii przepływowej. *Festuca tatrae* jest diploidem, natomiast *F. amethystina* obejmuje diploidy i tetraploidy. Akcesje taksonów nie różniły się genetycznie na podstawie zmienności ITS. Potwierdzono bliskie pokrewieństwo gatunków. Mikrosatelity SSR różnicowały ich populacje/taksony. Stwierdzono przepływ genów pomiędzy populacjami, zwłaszcza w obrębie *F. amethystina*. AMOVA wykazała 36% zmienności wyjaśnionej przez poziom taksonomiczny. W moim odczuciu jest to wynik wskazujący na bardzo wysoką składową taksonomiczną zmienności genetycznej populacji. W badaniach nad zmiennością genetyczną gatunków tojadów *Aconitum* w Karpatach (*A. firmum*) i Sudetach (*A. plicatum*) uzyskano wynik wynoszący 21% (Boroń i wsp. 2015). W konkluzji znajduje się m. in. stwierdzenie, iż markery transferowe mogą być przydatne w badaniu zjawisk genetyczno-populacyjnych.

Praca z 2022 r. dotyczy bardzo interesującego zagadnienia metylacji DNA w warunkach stresowych. Jest to bardzo ważny nurt współczesnych badań przyrodniczych. W pracy zadano następujące pytania:

1. Jakie zmiany w globalnej metylacji DNA obserwuje u okazów *F. amethystina* i *F. tatrae* utrzymywanych w warunkach ogrodu (*common garden*) w warunkach stresowych (susza, wysoka temperatura i duże nasłonecznienie) oraz w korzystniejszych warunkach, w zależności od gatunku i poziomu ploidalności?

2. Które czynniki: klimatyczne, wilgotność gleby lub cechy fenotypowe okazów zmierzone podczas eksperymentu są najbardziej związane z poziomem metylacji DNA?

3. Czy pochodzenie roślin jest związane z poziomem metylacji DNA w warunkach ogrodu?

W tym celu wykorzystano okazy pochodzące ze stanowisk naturalnych, uprawiane w ogrodzie. Zadbano o właściwą procedurę pozyskiwania materiału badawczego.

Wgłębiając się w tekst pracy, nie znalazłem syntetycznej informacji odnośnie warunków kontrolnych i stresowych, która wyjaśniałyby sytuację pogodową w dwóch terminach poboru próby w każdym z lat 2018 i 2019, określanych jako warunki kontrolne i stresowe. Szczegółowe informacje znajdujące się w materiale dodatkowym określają poziom wilgotności gleby i nie dają szybkiego wglądu w to zagadnienie. Brak danych dotyczących temperatury i nasłonecznienia. Przyjmuję jednak (w dobrej wierze), że różniły się istotnie w porównywanych okresach.

W wyniku badań znalazła potwierdzenie reguła, iż stres wywołuje hipermetylację u badanych gatunków i cytotypów. W roku 2018 stwierdzono różnicę reakcji epigenetycznej pomiędzy *F. tatrae* i tetraploidalnym cytotypem *F. amethystina*, zarówno w warunkach kontrolnych, jak i stresowych. Zależność ta nie znalazła potwierdzenie w 2019 r. Nie przypisywałbym również znaczenia wynikowi dotyczącego hipometylacji u tetraploida w porównaniu do diploidalnej formy *F. amethystina*. Jest to ewidentnie różnica statystycznie nieistotna. W związku z tym jak najbardziej uprawniona wydaje mi się konkluzja: "*These findings suggest that the higher level of DNA methylation observed in diploids may be influenced by the general condition of the plants and their development, and not by ploidy level per se*". Ogólnie jednak stwierdzono wyraźną tendencję wzrostu natężenia ogólnej metylacji wraz ze wzrostem ploidalności. Odnoszę wrażenie, iż nie ma różnic pomiędzy diploidalnymi *F. tatrae* i *F. amethystina*. Jednocześnie wyższy poziom metylacji w warunkach stresu środowiskowego związany jest mniejszą różnicą cechy pomiędzy warunkami kontrolnymi i stresowymi. Być może, według autorów, wynik ten sugeruje, że wyższe poziomy metylacji mogą powodować wolniejsze procesy demetylacji podczas przejścia do warunków bezstresowych. Można jednak także sugerować, że wyższe poziomy ploidalności utrzymują roślinę w stanie większej gotowości "bojowej" na wypadek zaistnienia czynników stresowych. Nie można

przecież wykluczyć, że zdefiniowany przez autorów stan kontroli posiadał również czynniki stresowe, lecz nierozpoznane, na które roślina także reagowała. Równocześnie przypisywałbym mniejsze znaczenie wynikowi wskazującemu na korelację pomiędzy poziomem metylacji w warunkach kontrolnych a stresowych. Wynik mógł być uzależniony od różnicy natężenia stresu, większego w 2019 roku (tutaj brak tabeli określającej poziom stresu). Zasadniczo badane cechy fenotypu gatunków nie są związane z poziomem metylacji; w niektórych przypadkach znaczenie posiada, jak wykazali autorzy, wilgotność gleby, natomiast zdecydowanie ploidalność ma znaczenie podstawowe. Spośród czynników bioklimatycznych nie uzyskano wyników wskazujących na istotne i powtarzalne oddziaływanie któregośkolwiek z nich. Należy zatem zgodzić się z konkluzją, być może nazbyt optymistyczną, iż *"It should be noted that most of the regression models calculated in our study poorly describe the level of DNA methylation. It therefore appears that the analyzed variables modify the methylation level rather than independently shaping it"*.

Wykorzystanie wskaźników bioklimatycznych do badania poziomu metylacji posiada poważne ograniczenia, gdyż, jak sami autorzy to wykazali, przebieg procesu uzależniony jest od *"fine-grained"*, działających w małej skali przestrzennej i czasowej czynników środowiska, wpływających na lokalną niszę klimatyczno-terenową. Ogólna, uśredniona wartość klimatu w skali regionalnej nie jest w stanie oddać tej zmienności. Oczywiście, nie oznacza to, że nie należy podejmować tego typu prób.

Nasłonecznienie wpływa na ogólny poziom metylacji. Wynik ten sugeruje, że metylacja wzrasta wraz z aktywnością fotosyntetyczną.

W nieopublikowanej pracy przesłanej do czasopisma *Journal of Biogeography* autorzy poszerzają zakres badań nad gatunkami traw o większy zakres terytorialny i metodyczny. W badaniach uwzględniono cały europejski zasięg gatunku. Dla celu pracy przeprowadzono badania genetyczne, koncentrując uwagę na wskaźnikach różnorodności genetycznej populacji. Wykazano niewielki poziom przepływu genów między populacjami. Na podstawie modelowania nisz ekologicznych wskazano potencjalne refugia glacialne gatunków. Interesującym wynikiem jest wykazanie, iż cytotypy diploidalne posiadają mniejsze potencjalne zasięgi w porównaniu do formy tetraploidalnej. Praca ta, zapewne jeszcze po przeróbkach zgodnych z opiniami recenzentów, będzie istotnym wkładem dotyczącym mechanizmów powstania polodowcowych zasięgów roślin górskich.

Ocena ogólna dorobku

Oceniając uzyskane wyniki badań Pana P. Tomczyka *et consortes* uważam je za bardzo interesujące i otwierające nowe perspektywy badawcze. Szczególne znaczenie posiadają wnioski odnośnie wpływu poziomu ploidalności na poziom reakcji epigenetycznej. Za nieco kontrowersyjne uważam stwierdzenie znajdujące w tezach dysertacji, iż górskie gatunki diploidalne, przystosowane do niskich temperatur, w czasie zlodowaceń były ograniczone do refugiów. Jest to prawda, jednak należy także podkreślić, iż tworzyły formy wyjściowe i dały prawdopodobnie podstawę do powstania gatunku potomnych, w tym poliploidów o szerokich zasięgach geograficznych. Niemniej jednak bardzo interesująca jest kwestia relacji pochodzenia pomiędzy badanymi gatunkami. Być może istnieją na ten temat jakieś opublikowane dane. Badania autorów z wykorzystaniem ITS nie dały odpowiedzi na to zagadnienie, co jest sytuacją często spotykaną.

Zapewne w przyszłości badania dotyczące reakcji stresowej powinny być zaplanowane i wykonane w *stricte* kontrolowanych warunkach stresu. Uzyskane wyniki, traktowane jako wstępne, są w pełni zadowalające. Na podkreślenie zasługuje eksperymentalne potwierdzenie przyczyn szerokiego rozprzestrzenienia rasy tetraploidalnej na niżu związanej z poszerzeniem niszy ekologicznej formy wyjściowej w rezultacie oddziaływań epigenetycznych. Stwierdzenie to jest cennym komentarzem do tradycyjnych ujęć geobotanicznych.

Z całą pewnością należy stwierdzić, iż rozprawa doktorska tworzy oryginalne rozwiązanie postawionych problemów. Doceniam szeroką wiedzę teoretyczną doktoranta oraz umiejętność postawienia problemów badawczych, doboru materiału badań (choć w tym przypadku rola promotora jest pierwszorzędna) i samodzielnego ich rozwiązania z zastosowaniem (przy udziale specjalistów) zaawansowanych technik laboratoryjnych, statystycznych, numerycznych i GIS. Na podkreślenie zasługuje również działalność popularyzatorska doktoranta. Z wielką przyjemnością przeczytałem artykuły opublikowane w czasopiśmie Kosmos dotyczące zagadnień epigenetyki i znaczenia pomostu lądowego Beringi w historii polodowcowej. Dowodzą one dużej erudycji naukowej doktoranta.

Należy zauważyć, że epigenetyka znajduje się obecnie w fazie dynamicznego rozwoju. Zapewne powiązanie terenowych badań ekofizjologicznych i epigenetycznych czeka wielka przyszłość. Badania te noszą charakter podstawowych i nie należy oczekiwać ich natychmiastowego zastosowania praktycznego. Mają podstawowe znaczenie w zrozumieniu podstaw genetycznych i fizjologicznych w ewolucji taksonów i ich historii zasięgów. W tym aspekcie posiadają kapitalne znaczenie w praktycznej ochronie przyrody.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska pana mgr Przemysława Tomczyka spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o tytule naukowym i stopniach naukowych oraz

o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Zarazem wnioskuję do szanownej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o **dopuszczenie** pana P. Tomczyka do przeprowadzenia publicznej obrony rozprawy doktorskiej i nadania stopnia doktora. Jednocześnie biorąc pod uwagę nowatorskie ujęcie tradycyjnych badań geobotanicznych wnoszę o **wyróżnienie pracy** stosowną nagrodą. Po pierwsze, doceniam kompetencje doktoranta w zakresie genetycznych badań laboratoryjnych, w tym wybór markerów SSR, przeprowadzenie analiz PCR i analizę wyników. Widzę w tych działaniach dużą samodzielność i sprawność, co w połączeniu z populacyjnymi badaniami terenowymi i taksonomicznymi dało pozytywny wynik. Po drugie doceniam wysiłek włożony w uzyskanie materiału roślinnego z naturalnych populacji. Wymaga to to dobrego rozeznania siedliskowo-terenowego i doświadczenia, które nie zdobywa się w laboratorium, lecz w kontakcie z żywą przyrodą.

Kraków, 14.08.2023.



