

Prof. dr hab. Andrzej Kacznowski
Instytut Zoologii, Wydział Biologii
Uniwersytetu Warszawskiego
Warszawa 92-096
Ul. Miecznikowa 1
e-mail: <kaczan@biol.uw.edu.pl>

Warszawa 29.10 2004

OCENA

osiągnięć naukowych, naukowo-badawczych oraz dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego dr. Sebastiana Tarcza w związku z postępowaniem w sprawie nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych (dyscyplina biologia).

Ocena została przygotowana na wniosek Rady Naukowej Instytutu Systematyki i Ewolucji
Zwierząt (ISEZ) PAN w Krakowie .

1. Podstawowe dane o kandydacie :

Pan dr. Tarcz ur w roku 1978, studiował na UAM w Poznaniu na kierunku
biotechnologia. Pracę magisterską wykonał w Pracowni Genetyki Nowotworów w Instytucie
Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, pod kierunkiem prof. dr. hab. Włodzimierza
Krzyżosiaka. W latach 2003-2007 był doktorantem Międzynarodowego Studium
Doktoranckiego Nauk Przyrodniczych PAN w Krakowie. W 2007 uzyskał tytuł doktora nauk
biologicznych na podstawie rozprawy doktorskiej p. t.: „Badania zróżnicowania gatunkowego
q obrębie *Paramecium novaurelia* z zespołu gatunków *Paramecium aurelia* (*Ciliophora*,
Protozoa) na podstawie analizy porównawczej wybranych fragmentów DNA” Promotorem
jego pracy doktorskiej była Pani. prof. Ewa Przyboś.

W roku 2007 został on adiunktem w Zakładzie Zoologii Doświadczalnej ISEZ PAN w
Krakowie , a w 2009 kierownikiem Pracowni Techniki Molekularnych Instytutu.

2. Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę Jego habilitacji.

Jako swoje główne osiągnięcie naukowe Dr. Tarcz przedstawił cykl sześciu prac które wymieniam poniżej i nadał jemu tytuł „**Kod kreskowy DNA jako narzędzie oceny zmienności genetycznej wybranych gatunków rodzaju *Paramecium***”.

1. **Przyboś E, Tarcz S, Potehkin A., Rautian M., Prajer M** (2012) A two locus molecular characterization of *Paramecium calkinsi* Protist: 163:263-273, (IF= 4,14).
2. **Tarcz S., Potehkin A. , Rautian M., Przyboś E.** (2012) Variation in ribosomal and mitochondrial DNA sequences demonstrates the existence of intraspecific groups in *Paramecium multimicronucleatum* (Ciliophora, Oligohymenophorea). Molecular Phylogenetics and Evolution: 63:500-509, (IF=4,07).
3. **Przyboś E, Tarcz S, Prajer M, Surmacz M., Rautian M, Sawka N** (2012) Does high intraspecific variability of two genome fragments indicate a recent speciation process of *Paramecium dodecaurelia* (*P aurelia* species complex, Ciliophora, Protozoa? Systematic and Biodiversity 10(3): 255-265, (IF= 1,88).
4. **Tarcz S, Przyboś E , Surmacz M** (2013) An assessment of haplotype variation in ribosomal and mitochondrial fragments suggests incomplete lineage sorting in some species in *Paramecium aurelia* complex (Ciliophora, Protozoa) . Molecular Phylogenetics and Evolution 67: 255-265, (IF= 4,07)
5. **Przyboś E, Tarcz S.** (2013) Three locus analysis in conjunction with strain crosses in *Paramecium jenningsi* (Dealer and Earl 1958). Systematic and Biodiversity (if 1,88) 11: 507-523, (IF= 1,88).
6. **Tarcz S, Rautian M, Potekhin A Sawka N. Beliauskaya A., Kiselev A Niekrasova I., Przyboś E** (2014) *Paramecium putrinum* (Ciliophora, Protozoa): The first insight

into the variation of two DNA fragments - Molecular support for the existence of syngens *Molecular Phylogenetics and Evolution* **73**: 140-145,. (IF= 4,07).

Prace te były opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych, a ich łączny IF wynosił :20.1 P. W trzech pracach dr. Tarcz był pierwszym autorem, w trzech drugim, ale we wszystkich sześciu pracach wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej był autorem korespondencyjnym. Jego udział we wszystkich sześciu pracach wynosił od 50-85% i zgodnie z przepisami dr Tarcz załączył oświadczenia jego współautorów potwierdzających te szacunki.

Rodzaj *Paramecium* jest jednym z najbardziej badanych rodzajów wśród orzęsków (*Ciliata*). Obejmuje on dużą grupę gatunków które można podzielić na kilka grup (podrodzajów). Jednakże rozróżnienie poszczególnych gatunków w obrębie każdej z tych grup jest bardzo utrudnione, ponieważ najczęściej są to nie tylko gatunki blisko z sobą spokrewnione, lecz zarazem takie gatunki które nie są rozróżnialne morfologicznie (kryptogatunki), chociaż wykazują one izolację genetyczną nie krzyżując się pomiędzy sobą (brak koniugacji), lub wykazując brak żywotności koniugantów.

Dlatego we współczesnej taksonomii i filogenetyce orzęsków stosuje się przede wszystkim tak zwany „kod kreskowy” czyli porównywanie sekwencji wybranych fragmentów DNA, które są klonowane i powielane metodą PCR. Najczęściej stosowane są fragmenty sekwencji które kodują ribosomalne RNA ITS1-5.8S-ITS2 LSU rDNA i SSUrRNA, oraz sekwencji mitochondrialnego genu kodującego pierwszą podjednostkę oksydazy cytochromowej *COI*. Sekwencje te występują powszechnie u *Eucaryota* i mogą być stosowane nie tylko do prostej identyfikacji poszczególnych szczepów, lecz również do tworzenia drzew filogenetycznych badanych gatunków w obrębie dowolnych grup *Eucaryota* co nadaje im znaczenie uniwersalne.

Dr. Sebastian Tarcz badał i porównywał sekwencje ITS1-5.8. S- ITS2 LSU rDNA i *COI* zgodnie z przyjętymi obecnie standardami. W jednej pracy nad *P. jenningsi* zastosował on również drugi gen mitochondrialny gen kodujący cyt B. Okazało się że wykazywał on podobną różnorodność sekwencji co gen *COI*. Badania dr Tarcza nie ograniczały się jedynie do identyfikacji poszczególnych szczepów, (co mógłby sugerować tytuł głównego osiągnięcia naukowego), lecz obejmowały również (a może przede wszystkim) ich pokrewieństwa i filogenezę gatunków obrębie rodzaju *Paramecium*, a także rzucają światło na proces ich specjacji.

W ISEZ PAN w Krakowie znajduje się obecnie największa w świecie kolekcja żywych szczepów *Paramecium* zbieranych w całej Paleoarktyce i Am. Północnej, które reprezentują większość znanych obecnie gatunków tego rodzaju. Każdy z gatunków badanych przez dr. Tarcza był reprezentowany przez wiele szczepów, które wykazywały różne haplotypy badanych genów. Wyniki te są szczególnie przekonujące w tych przypadkach, w których odrębność poszczególnych gatunków została potwierdzona testami parowania i badaniem przeżywalności potomstwa krzyżówek w pokoleniach F1 i F-2. Na tej podstawie już uprzednio wyodrębniono 15 odrębnych gatunków w grupie „aurelia”. Dr Tarcz zbadał zakres dywergencji genetycznej sekwencji ITS1-5.8S-ITS2 LSU rDNA i *COI* we wszystkich 15 gatunkach tej grupy i oszacował zarówno wewnątrz gatunkową jak i między gatunkową różnorodność, oraz liczbę haplotypów. Wewnątrz gatunkowa różnorodność sekwencji genu *COI* dla większości gatunków z grupy „aurelia” nie przekraczała 7% (Praca nr 4). Jednakże dla dwóch gatunków *P. dodecaurelia* i *P. decaurelia* była ona nadspodziewanie wysoka >10%. Otrzymane drzewa filogenetyczne wskazywały na polifiletyczny charakter tych dwóch gatunków wewnątrz grupy „aurelia” przy zachowaniu monofiletyczności i odrębności całej grupy „aurelia”.

W poprzedniej pracy (praca nr 3) autorzy wykonali w sumie 37 krzyżówek pomiędzy szczepami *P. dodecaurelia*, pochodzącymi z bardzo wielu odległych geograficznie stanowisk tego gatunku np. z Honolulu Włoch Polski i Japonii. W większości przypadków wykazywały one bardzo dobrą przeżywalność zarówno w F-1 (po koniugacji) jak i w F-2 po autogamii , pomimo różnorodności genetycznej sekwencji mitochondrialnego genu *COI* (około 7%) i dużych odległości geograficznych stanowisk ich pochodzenia. Wyjątek stanowiły trzy krzyżówki, w których przeżywalność w F-2 wynosiła jedynie 38-, 51, i 74%. Być może więc jest to początek procesu specjacji. Badanie molekularne wykonane przez dr Tarcza wskazywało na to, że badane szczepy można podzielić na trzy odrębne grupy widoczne na otrzymanych drzewach filogenetycznych . Zmienność badanych sekwencji w każdej z nich jest dużo mniejsza niż ich zmienność sumaryczna dla wszystkich badanych szczepów *P. dodecaurelia*. Także i te wyniki mogą wskazywać na początek procesu specjacji, co prawdopodobnie wiąże się z bardzo rozległym obszarem, na którym zbierane były badane szczepy.

Oprócz gatunków należących do grupy. „*aurelia*” dr. Tarcz z swoimi współpracownikami badał dwa gatunki blisko z nimi spokrewnione, lecz jednak odrębne *P. jenningsi* i *P. multimicronucleatum* (prace nr 2 i 5).. W obrębie szczepów oznaczanych dotychczas jako *P. jenningsi* wykazano istnienie 3 ch grupach szczepów, izolowanych genetycznie a więc de facto stanowiących kryptogatunki podobnie jak to ma miejsce w grupie *P. aurelia*, co jest zgodne z otrzymanymi drzewami filogenetycznymi. W jednej z krzyżówek pomiędzy dwoma szczepami pochodzącymi z odległych geograficznie stanowisk wykazano obniżoną żywotność komórek, co tak jak w przypadku *P. dodecaurelia* może wskazywać na początek dalszej specjacji .

Dr Tarcz badał także liczne szczepy w każdym z trzech innych gatunków *Paramecium*: *P. multimicronucleatum* (44 szczepy), *P. calkinsi* (10 szczepów) i *P. putrinum* (29 szczepy)

(prace nr 1, 2, 6)⁵ W każdym z nich występowała stosunkowo duża różnorodność genetyczna genu *COI* i odrębność 3-5 grup szczepów. Ponieważ na odpowiednich kladogramach genów *COI* i IT1-5.8 S-IT2 LSU rDNA grupy te stanowią wyraźnie odrębne klady prawdopodobnie są one w istocie odrębnymi bliźniaczymi krypto gatunkami, co wymaga potwierdzenia na drodze odpowiednich krzyżówek. (Trudność stanowi jednak to, że wyniki negatywne (brak parowania) mogą być związane z brakiem dwóch różnych typów płciowych w poszczególnych szczepach a nie tylko z izolacją rozrodczą szczepów. W przypadku *P. multimicronucleatum* już Sonneborn wyróżnił co najmniej 4 gatunki bliźniacze, wykazując ich izolację rozrodczą, co jest całkowicie zgodne z wynikami dr. Tarcza. Natomiast brak jest danych dotyczących izolacji rozrodczej pomiędzy wyodrębnionymi grupami szczepów *P. calkinsi* i *P. putrinum*. Jeśli zostanie ona potwierdzona to okaże się, że występowanie bliźniaczych kryptogatunków est zjawiskiem powszechnym w rodzaju *Paramecium*.

W swoim autoreferacie dr. Tarcz zwraca uwagę na to, że ciekawym zagadnieniem związanym z procesem specjacji w rodzaju *Paramecium* jest częsta (choć jak się wydaje nie powszechna) kosmopolityczność poszczególnych gatunków w obrębie całej półkuli północnej, która jest trudna do wytłumaczenia na podstawie dostępnych danych..

Wreszcie dr Tarcz wraz z współautorami potwierdzili odrębność głównych gałęzi (kladów) w obrębie rodzaju *Paramecium*. Zgodnie z ich kladogramami gatunki grupy *P. aurelia* stanowią bardzo dobrze wyodrębnioną gałąź ale są one blisko spokrewnione z *P. multimicronucleatum*, *P. caudatum* i *P. jenningsi* i mogą być zaliczone do tego samego podrodzaju, podczas gdy *P. putrinum* i *P. calkinsi* należą do innych podrodzajów (odrębnych kladów) a cały rodzaj *Paramecium* jest rodzajem monofiletycznym.

Na zakończenie mam jedną uwagę formalną dotyczącą nomenklatury. Dr Tarcz stosuje wymiennie pojęcia gatunków bliźniaczych kryptogatunków i syngenów.

Pojęcie syngenów wprowadził początkowo T. Sonneborn dla odrębnych chociaż nierozróżnialnych morfologicznie gatunków w obrębie grupy „*aurelia*”. Jednakże pod wpływem Ernsta Meyera nadał im odrębne nazwy gatunkowe. Sądzę więc że obecnie lepiej unikac posługiwania się terminem syngen. Ta czysto formalna uwaga w mojej opinii nie umniejsza wartości prac przedstawionych przez dr Tarcza jako jego główne osiągnięcie badawcze.

3. Ocena dorobku naukowo-badawczego habilitanta

Dr. Sebastian Tarcz był współautorem 27 prac opublikowanaych w recenzowanych czasopismach naukowych. Prace te dotyczyły filogenetyki *Paramecium* i zagadnień pokrewnych z wyjątkiem dwóch prac dotyczących *Lepidoptera*. Prace dr. Tarcza były cytowane 67 x po wyłączeniu autocytowań, a Jego index Hirsha dr. Tarcza był równy 8. Łączny impact factor (IF) prac dr Tarcza wynosił 42,4 w tym IF 6 prac przedstawionych jako Jego główne osiągnięcie wynosił 20,1, a pozostałych 21 prac 22,3. Warto zwrócić uwagę na stopniowy wzrost rangi czasopism w których dr. Tarcz publikował swoje prace co potwierdza wzrost ich if. W latach 2005-2009 średni IF prac dr. Tarcza wynosił 0,53, a w latach 2009-2014 po wyłączeniu 6 prac głównego osiągnięcia naukowego już 1,39. Ta pozytywna tendencja związana jest między innymi ze wzrostem znaczenia badań nad *Paramecium* i udziałem pracowników naukowych ISEZ PAN w tym dr. Tarcza w międzynarodowych programach badawczych dotyczących rodzaju *Parameium*

1. Akcja COST BM 1102 (2011-2015) Ciliates as model systems to study genome evolution, mechanisms of non mendelian inheriotance , and their roles in environmental adaptation.
2. France Genomique (2013-2016) Trans generational epigenetic inheritance , genome defence and mating incompastibility in the P. Aurelia complex of 15 sibling species”

Dotychczas modelowym gatunkiem *Paramecium* jest *P. tetraurelia*. W ciągu ostatnich kilkunastu lat stał się on ważnym obiektem badań dotyczących roli małych dwuniciowych cząsteczek RNA w rearanzacji genomu i wyciszaniu genów. *P. tetraurelia* i był także pierwszym gatunkiem *Paramecium*, którego genom został zsekwencjonowany. Okazało się, że zawiera on około 39 000 genów kodujących białka to znaczy około 1,4 x więcej niż genom człowieka. Powodem tak dużej liczby genów były trzy kolejne duplikacje całego genomu, co przypomina zjawiska poliploidii wśród roślin kwiatowych. Według Aury et al., (2006 Nature **444** : 171-178) ostatnia duplikacja genomu nastąpiła już po oddzieleniu się tej gałęzi ewolucyjnej, którą stanowi grupa gatunków „*aurelia*”. Zachodzi więc pytanie czy i jakie duplikacje genomu przeszły inne gatunki *Paramecium* i jaką mają wielkość genomu ?

Dzięki ogromnym postępom dotyczącym metod sekwencjonowania DNA są obecnie sekwencjonowane dalsze gatunki z grupy *P. aurelia* a także genomy niektórych gatunków *Paramecium* spoza grupy „*aurelia*”, które należą do innych gałęzi filogenetycznych w obrębie tego rodzaju, co pozwoli na badanie ewolucji ich genomów. W tym kontekście warto podkreślić, że wyniki prac dr Tarcza i Jego współpracowników, a w szczególności otrzymane przez nich drzewa filogenetyczne gatunków *Paramecium* mogą okazać się w przyszłości bardzo użyteczne dla badań nad ewolucją ich genomów

Dr. Tarcz prezentował swoje wyniki na międzynarodowych Konferencjach konsorcjum GDRE *Paramecium* genomics W Potzburgu (Niemcy 2008) w Krakowie (2009) w Roscoff (Francja 2011).w Tallinie (2013) i 16 th Meeting of the Society of Evolutionary Protistology we Wrocławiu (2006).

Niezależnie od udziału w wyżej wymienionych programach Międzynarodowych Dr. Tarcz był kierownikiem 3ch projektów nadawczych MEN i głównym wykonawcą w dwóch projektach badawczych MEN.

4. Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego habilitanta

Dorobek dydaktyczny dr. Sebastiana Tarcza był bardzo skromny ponieważ ISEZ PAN nie prowadzi własnych zajęć ze studentami. Mimo to z własnej inicjatywy prowadził on zajęcia zlecone Na Uniwersytecie Rzeszowskim z przedmiotu „Wprowadzenie do technik i na Uniwersytecie Pedagogicznym w Krakowie z przedmiotu „Podstawy mikrobiologii z immunologią) .

Dr. Sebastian Tarcz brał udział w ważnych imprezach poświęconych popularyzacji nauki : Noc Biologów i Festiwal Nauki. Do Jego działalności popularyzatorskiej zaliczyłbym również udział w Sympozjum Polskiego Tow. Taksonomicznego (Ojców 2006) i „Warsztatach Ewolucyjnych” w Warszawie w roku 2008.

Wniosek końcowy

W konkluzji pozytywnie oceniam następujące elementy dorobku dr. Tarcza przedstawione przez Niego w związku z postępowaniem habilitacyjnym : 1) główne osiągnięcie naukowe Pana dr . Sebastiana Tarcza (6 prac i autoreferat), 2) całość Jego dorobku naukowego, 3) Jego udział w międzynarodowej współpracy naukowej (w programach które dotyczą ważnych zagadnień współczesnej biologii) , 4) Jego działalność dydaktyczną i popularyzatorską (mimo, że była ona skromna z powodu odizolowania ISEZ PAN od studentów wyższych uczelni). Na tej podstawie uważam , że Pan dr Tarcz w pełni spełnia merytoryczne i formalne wymogi dotyczące nadania stopnia doktora habilitowanego, określone w art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz 595 ze zmianami, Dz. U z 2005 r. nr 164, poz 1365).

Andrzej Kaczanowski