

Bírálói vélemény

Dr. Kusza Szilvia

“Genetikai diverzitás és filogenetikai kutatások Közép- és Dél-Európában élő domesztikált és vadon élő állatfajokban” című MTA doktori értekezéséről

A jelölt doktori értekezésének célja a Közép- és Dél-Európában található három házasított faj (juh, szarvasmarha és ló) egyes fajtáinak és négy vadon élő emlősfaj (vaddisznó, mezei nyúl, aranyakál és dámszarvas) állományainak vizsgálata a molekuláris genetikai eszközeivel. A disszertáció egy 13 éves, a Ph.D. fokozat megszerzése óta eltelt kutatási periódus eredményeit összegzi. Témája fontos és aktuális, hiszen a tanulmányozott fajok fontos szerepet töltenek be életünkben úgy, mint tenyésztett fajok, vagy a bennünket körülvevő ökoszisztémák fontos elemei. Emiatt nagyon lényeges, hogy populációik és fajtáik genetikai változékonyságát megismerjük, és azok kialakulására hipotéziseket állíthassunk fel.

Formai elemzés:

A dolgozat formája nem szokványos. A rövid általános bevezetésben a jelölt három oldalon ismerteti a kutatását motiváló tényezőket, az előzményeket és a kitűzött célokat. A következő két fejezetben (40 illetve 42 oldal) esettanulmányok segítségével tárja az olvasó elé a domesztikált és vadon élő fajok vizsgálata során kapott eredményeit. Az egyes esettanulmányok szerkezete a következő: Az adott faj vagy változat irodalmának rövid áttekintését a módszertani szekció követi, melyben a jelölt változó részletességgel mutatja be a munka során alkalmazott eljárásokat. Ezután következik az eredmények ismertetése és megvitatása, melyben az adatokat közel 60 illusztráció segítségével adja meg. Az egyes esettanulmányok végén összegzi az új tudományos eredményeket és javaslatot tesz azok lehetséges hasznosítására.

A bőséges irodalomjegyzék (28 oldal) több száz, túlnyomó többségében gondosan szerkesztett referenciát tartalmaz ABC sorrendben. A dolgozatot a részletes köszönetnyilvánítás zárja.

A tézisek szerkezete hasonló a disszertációéhoz azzal az eltéréssel, hogy az előbbi végén megtalálható a jelölt kutatásának ezen fázisához kapcsolódó kilenc legjelentősebb publikációjának jegyzéke is. A cikkek egy kivételével nemzetközileg jól jegyzett, referált lapokban jelentek meg. A jelölt hatban első szerző, kettőben feltehetően utolsó szerző (egyiknél a szerzői lista jelölése nem egyértelmű), míg a kilencedikben társszerző.

A disszertáció egészében véve gondosan szerkesztett, de sajnos több helyen tartalmaz meglepő hibákat. Az ábrákat magyarázó szövegrészek pozíciója például nem követi a tudományos konvenciókat, konzekvensen az illusztrációk fölé kerültek, meghazudtolva elnevezésüket (ábraALÁírás). A táblázatok fejlécei és az ábrákhoz tartozó szövegek többnyire kellően részletesek, megadva az olvasónak a megértéshez és értelmezéshez szükséges esszenciális információkat, ugyanakkor helyenként (pl. 2-5. ábrák vagy 23-24. táblázatok) csak egy mondatos címek találhatók, sőt még a faj illetve fajták neve is hiányzik. A 18. oldalon található képhez hasonló illusztrációkból sokkal több kellett volna: véleményem szerint kellett volna minden vizsgált fajt és fajtát ilyen módon bemutatni azon olvasók számára, akik nem ezen a kutatási területen tevékenykednek. Ugyanakkor furcsálom a 'kép' elnevezést, hiszen ezt a kategóriát a nemzetközi szakirodalom nem ismeri, ezt is az ábrák közé kellett volna besorolni. A táblázatokban és ábrákon található rövidítéseket minden egyes esetben magyarázni kellett volna: ha új információról van szó, akkor a lábjegyzetben vagy az aláírás részeként, ha ismétlődőről, akkor az eredeti forrásra visszautalva.

Az értekezés olvasásakor zavarólag hat, hogy az egyes ábrákat, illetve táblázatokat leíró bekezdéseknek többször csak a végén utal az adott illusztrációra (lásd 22. és 41. oldal). Ezt mindig a bekezdés első mondatának a végén kellett volna megtenni, segítve ezzel az olvasót.

Szintén zavarólag hat az olvasás során, hogy az eredmények statisztikai analízisének módszertanát ismertető egyes részeknél (pl. 39. és 48. oldalak) a viszonyító elemzéshez használt Genbank-ból szekvenciák kódjainak tömegét a szövegben ömlesztve vannak felsorolva. Ezeknek egy Függelékbe illesztett táblázatban sokkal jobb helyük lett volna. Minden ilyen központi adatbankból történő letöltés esetén meg kellett volna adni az adatbázis aktuális verzióját és a letöltés pontos idejét is.

A szövegben helyenként magyarázat nélkül bukkannak fel olyan rövidítések, melyek korábban nem lettek bemutatva, és nincs mellettük magyarázat sem. Például a 76. oldalon megjelenő RADSeq (restriction site-associated DNA sequencing) és GBS (genotyping-by-sequencing) nevű módszerek rövid bemutatása és magyarázata jól beillett volna egy genomikai módszertani bevezetőbe (lásd alább).

A disszertáció stílusa gördülékeny, a szöveg viszonylag kevés elírást és nyelvtani hibát tartalmaz, de helyenként felbukkannak a szóismétlések. Az esettanulmányok nyolcszorosan ismétlődő szerkezete láthatóan komoly kihívást jelentett a jelölt számára, hiszen például az Anyag és Módszer fejezeteknél nagyjából hasonló munkafolyamatokat kellett úgy ismertetnie, hogy az ismétlődések mértékét minimális szinten tartsa. Ez sajnos nem mindig sikerült, így az olvasónak időnként 'djà vu' érzése támad.

Az értekezés többnyire esztétikusan formatált, jól tagolt és szerkesztett. A fejezetek és alfejezetek tisztán el vannak határolva egymástól, utóbbiak mindig új oldalon kezdődnek. Kár, hogy néhány nagyméretű ábra és táblázat előtt (pl. 49. és 61. oldalak) is üresen tátongó fél oldal maradt ki, ezeket az illusztráció után következő szöveg előre mozgatásával fel lehetett volna tölteni.

A kiegészített rövid referenciák jól kivehetők a szövegben. Ugyanakkor itt-ott felbukkannak olyan honlapokra mutató internetes 'linkek', melyek rontják a szöveg összképét (pl. 70. oldal). Ezeknek lehetett volna adni egy elnevezést (pl. a honlap nevét vagy például a honlap1, honlap2, stb. fantázianevet), és utána ezt idézve el lehetett volna bujtatni őket az 'Irodalomjegyzékben', ahogy ez egyes esetekben meg is történt.

Az 'Irodalomjegyzék' formatálása egységes, kevés a hiányosan idézett cikk (pl. Palacios és mtsai., 2004). Ugyanakkor a könyvek, illetve könyvfejezetek esetében rendre kimaradt a kiadó címe (város, ország), mely a nemzetközi konvenció szerint kötelező feltüntetni. A konferencián elhangzott anyagok citációja sem mindenütt teljes, mert itt a konferencia helyszíne mellett annak pontos időszakát is meg kellett volna adni (hónap és napok). Az idézett publikációk között néhány olyan is szerepel, melynek több tucat szerzője van (pl. Groenen és mtsai, 2012 vagy Maddox és mtsai, 2001). Amennyiben a formai követelmények ezt így kívánják meg, abban az esetben az MTA illetékes bizottságának érdemes lenne megfontolnia, hogy ilyen esetekben csak az első tíz szerzőt íratják ki, ahogy ezt nagyon sok tudományos folyóirat teszi.

Az ábrák és táblázatok többsége tisztán szerkesztett, világos, jól kivehető részletekkel. Ugyanakkor egyes esetekben nem ártott volna nagyobb fontot (pl. 23. táblázat, 50. oldal) vagy más arányokat (pl. 5. ábra; 25. oldal) használni a még jobb láthatóság érdekében. Az előző esetben a szöveg egy InDel pozíciót említ, mely a 23. ábrán nem látható.

Az értekezésben bemutatott adatok jelentős mennyiségű munka eredményei. A jelölt, kollégái és együttműködői a vizsgált hét faj több, mint 1400 egyedéből gyűjtöttek mintákat, majd azok DNS-ét izolálták, és egy vagy több polimorf DNS markertípussal genotipizálták vagy genotipizáltatták. Kár, hogy a dolgozat elején nem jelenik meg egy olyan összegzés, mint a Tézisek 1. táblázata, melyből a munka volumene és az egyes fajokon végzett analízis mélysége azonnal nyilvánvalóvá válna.

Részletes tartalmi elemzés:

A munka általános célja az volt, hogy hét, Közép- és Dél-Európában élő emlősfajnak, melyek közül három domesztikált és négy vadon élő, illetve azok egyes fajtáinak genetikai sokféleségét polimorf DNS markerekkel megvizsgálja, és jellemezze. A fenti általános cél mellett a fajokra lebontott specifikus célok a következők voltak:

- 1) A kelet- és délkelet-európai juhajták esetében a korábbi genetikai eredmények kiegészítése a helyi juhajtákból származó adatokkal.
- 2) A hortobágyi rackánál a két színváltozat elkülöníthetőségének analízise.
- 3) A veszélyeztetett román szürke marha esetében genetikai információ nyérése a későbbi tenyésztési és fajtamegőrzési programok számára.
- 4) A hucul lovaknál információ szerzése a fajtát feltételezhetően korábban ért palacknyak hatásról.
- 5) Vaddisznó esetében a régió populációiban létrejött szerkezeti és demográfiai hatások kimutatása és a múzeumban tárolt minták genetikai analízisre való alkalmazásának tesztelése.
- 6) A mezei nyúl esetében hét ország populációinak analízise a közöttük levő filogenetikai kapcsolatok és kontakt zónák felderítése érdekében.
- 7) Az aranybakál esetében a legkorábban kolonizált hazai területen élő populáció vizsgálata.
- 8) A Magyarország északkeleti részén található dámszarvas haplotípusok analízise és azok összehasonlítása a korábbi hazai, illetve világszerte található haplotípusokkal.

A cím jól fedi a munka tartalmát, de némileg redundáns. Talán érdemes lett volna megfontolni a következő verziót: 'Közép- és Dél-Európában élő emlősfajok genetikai sokféleségének és filogenetikájának vizsgálata'.

Hiányzik az értekezésből a rövidítések jegyzéke, mely igen hasznos lenne a ritkán felbukkanó ismétlődések (pl. LGM – Last Glacial Maximum) jelentésének gyors kiderítésénél.

A Bevezetés betölti legfőbb célját. A jelölt frappánsan megindokolja, miért fontosak a kutatásai, majd világosan összefoglalja az előzményeket is. Az általános célkitűzések rövidek, és lényegre törőek.

Nagyon hiányzik viszont ebből a fejezetből az alkalmazott kutatási eljárások elméleti hátterének összefoglalása. Itt kellett volna bemutatni az alkalmazott genetikai/genomikai módszereket (mtDNS kontroll régió, illetve D-loop fragment szekvenálása, polimorf mikroszatellitek genotipizálása és SNP-chipekkel történő genomanalízis), ismertetni erőnyeiket és lehetséges hátrányaikat, elhelyezni őket a

rendelkezésre álló egyéb genetikai és genomikai eljárások hálójában, és megindokolni, miért éppen ezeket a módszereket választotta eszközként. Ezen szekció hiánya nehéz helyzetbe hozza majd azokat az olvasókat, akik a tenyésztés vagy természetvédelem oldaláról közelítve próbálnak majd többet megtudni az értekezésből kedvenc állatfajuk populációinak hazai illetve regionális viszonyairól.

A nyolc esettanulmány tartalmi analízise során először a közös jellemzőkre, majd pedig az egyes tanulmányokkal kapcsolatban teszek specifikus észrevételeket.

Az 'Irodalmi áttekintések' logikus szerkezetűek, jól bemutatják a vizsgált fajok vagy fajták jellemzőit.

A veszélyeztetett román szürke marha fajta történetének bemutatása során a jelölt sajnos nem ad információt arra nézve, hogy mekkora a teljes állomány egyedszáma. A vaddisznó esetében az irodalomból rendelkezésre álló haplotípusok és klaszterek elterjedésének bemutatásához sokat segített volna egy térképes ábra.

Az értekezésben a szerző felváltva használja a sakál, illetve aranysakál (*Canis aureus* L. 1758) neveket. Az előbbi pontatlan, az utóbbi a helyes.

A dámszarvas történetét ismertető rész kiemelkedően érdekes és részletes, jól elhelyezi a fajon folyó tanulmányokat és azok eredményeit a szarvasféléken folyó kutatások területén.

Az 'Anyag és Módszer' fejezetek általában logikusak, jól tagoltak és többnyire kellően részletesek. Szerepel a minták begyűjtése, a DNS izolálása, a genotipizálás és a statisztikai analízis során alkalmazott eljárások felsorolása. Azokban az esetekben, ahol a minták több típusú DNS markerrel lettek megvizsgálva, a vonatkozó módszereket a jelölt külön kifejti. Ugyanakkor, egyes esetekben (pl. a 6. oldal alján) a jelölt teljesen kihagyta a genomi DNS izolálási módszerének ismertetését, megelégedett egy referenciával, mondván "mivel nem módszert fejlesztettünk, nem részletezem a módszer lépéseit". Egyetértek, hogy ezen a szinten nincs szükség az eljárás egyes lépéseinek részletes ismertetésére, ugyanakkor jó lett volna legalább a módszer lényegét (pl. fenol-kloroformos extrakció, kisózás, vagy oszlopra kötést követő eluálás) megismerni anélkül, hogy az oda tartozó referenciából kelljen kikeresni.

A vaddisznó esetében nincs megjelölve a begyűjtött szövetminták típusa (p. tépett szőr, vér, stb.)

Az 'Eredmények és azok megvitatása' fejezetek első részében – a populációgenetikai elemzések jellegéből adódóan – többnyire a táblázatos genotipizálási adatok felsorolása és mechanisztikus értékelése dominál.

A több juh fajta klaszteranalízisének (2. ábra) jó lett volna utalni arra, hogy a vizsgált verziók közül a jelölt melyiket tartja a legvalószínűbbnek. A Peter és mtsai. (2007)

eredményeitől történő eltérésre, illetve kivircik juhoknak a dendrogramon elfoglalt pozíciójára a jelöltnek érdemes lett volna lehetséges magyarázato(ka)t adnia.

A hortobágyi rackáról szóló esettanulmány végére beillesztett, annak témájához lazán kapcsolódó bekezdés szerintem nem esszenciális a célkitűzések fényében.

A román szürke marha állomány esetén az értékelésnél érdekes lett volna látni, hogy milyen különbségeket mutat a környező országok, közöttük a magyar szürke marha állományával.

A vaddisznó esetében a SAMOVA analízis eredményét bemutató ábra és az azt magyarázó, szövegben lévő bekezdés tartalma nem teljesen egyeznek, ezt bővebben ki kellett volna fejteni. A filogenetikai analízis értelmezésénél és szakirodalommal történt összevetésénél a sem ártott volna némileg bővebb magyarázat arra nézve, hogy a jelölt és együttműködői által kapott eredmények miért nem feleltek meg az előzetes várkozásoknak. A fejezet végén található két bekezdés itt sem esszenciális.

A mezei nyúl populációk analízisének eredményeit ismertető szekció részletesen bemutatja a két fő vonalat (európai és anatóliai/közel-keleti), a hozzájuk tartozó alcsoportokat és a kontaktzónákat. A könnyebb összehasonlítást segítette volna, ha a két mtDNS markerrel kapott, hasonló módon analizált eredményeket egymás mellett, két-paneles ábrákon mutatja be a jelölt (15&19. illetve 16&20 ábrák).

Az 'Új tudományos eredmények és azok hasznosíthatósága' című fejezetekben a jelölt reálisan és mértéktartóan foglalja össze gondolatait. Megállapításaival a bíráló egyetért.

Összefoglalva a véleményemet: Dr. Kusza Szilvia MTA Doktori Értekezése hét emlős faj tucatnál több fajtájából begyűjtött nagyszámú minta genetikai analízisén alapul. A módszerek kiválasztása megfelelő, és azok a kutatás céljainak megfelelő módon lettek alkalmazva. Az értekezés, a tézisek és a kapcsolódó publikációk listájának analízise alapján megállapítom, hogy ezek a jelölt saját eredményei, melyek jelentős mennyiségű és megfelelő színvonalú kutatási teljesítményt jelentenek a Ph.D. fokozat megszerzése óta eltelt időszakban. A jelölt a kitűzött feladatok túlnyomó többségét sikerrel oldotta meg és a bírálat kezdetén felsorolt nyolc célkitűzés mindegyikét teljesítette. Az értekezés számos olyan új és újszerű kutatási eredményt tartalmaz, melyek hiánypótló jellegűek és alapjául szolgálnak majd a jövőben alap- és alkalmazott kutatásoknak.

A fentiek alapján Dr. Kusza Szilvia értekezését és az abban leírt kutatások eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez és a nyilvános vita kitűzését javaslom.

Kérdéseim a jelölthöz:

K1) Van-e annak speciális oka, hogy a különböző fajokból, de azonos forrásból (pl. tépett szőr) származó minták esetén eltérő DNS izolálási eljárásokat használtak?

K2) A vizsgált fajok és fajták esetében melyeknél látja szükségességét a további vizsgálatok kiterjesztését nagyléptékű genomi eljárásokra? Mely eljárásokat alkalmazná ezekben az esetekben és miért?

K3) Amennyiben rendelkezésére állna az ehhez szükséges anyagi támogatás, az értekezésében vizsgált fajok közül melyiknek a genomját szekvenálná meg, és miért?

Keszthely, 2020. április 30.



Dr. Orbán László
A biológiai tudomány kandidátusa
Címzetes egyetemi tanár