

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Świsłockiej
„Struktura genetyczna populacji łośia (*Alces alces*) w dolinie Biebrzy”, wykonanej w
Zakładzie Zoologii Kręgowców Uniwersytetu w Białymstoku
pod kierunkiem dr hab. Mirosława Ratkiewicza**

Filogeografia oparta na analizach genetycznych oraz genetyka populacyjna są obecnie bardzo dynamicznie rozwijającymi się dziedzinami biologii. Postęp technologiczny oraz coraz większe możliwości analiz danych genetycznych pozwalają na wyjaśnienie procesów zachodzących w istniejących populacjach, jak również umożliwiają opisanie procesów determinujących liczebność i rozmieszczenie gatunków w przeszłości. Oceniana rozprawa Pani mgr Magdaleny Świsłockiej poświęcona analizie zróżnicowania genetycznego łośia (*Alces alces*) oraz historii jego występowania na terenie Polski doskonale wpisuje się w ten nurt. Autorka zadaje sobie między innymi dwa następujące pytania, które uważam za najistotniejsze w całej ocenianej pracy: (1) jaka była historia kolonizacji Polski przez łośia? oraz (2) jakie czynniki kształtują zróżnicowanie genetyczne oraz strukturę genetyczną łośia w Polsce? W rozprawie Autorka podjęła się więc ważnego zadania, jakim jest ocena wpływu postglacjalnej historii kolonizacji na tworzenie się struktury genetycznej populacji łośia w Polsce oraz wykrycie czynników ograniczających obecną migrację łośi. Informacje te są niezbędne dla wypracowania skutecznej strategii ochrony tego gatunku przy zachowaniu jego pełnej zmienności genetycznej.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Magdaleny Świsłockiej pt. „Struktura genetyczna populacji łośia (*Alces alces*) w dolinie Biebrzy” ma formę maszynopisu i jest obszernym opracowaniem liczącym 210 stron (w tym 17 rycin i 30 tabel). Praca ma klasyczny dla rozpraw doktorskich układ rozdziałów, a wszystkie główne części rozprawy napisane są w sposób prawidłowy, nie mam większych zastrzeżeń ani do ich zawartości merytorycznej, ani do sposobu przedstawienia zawartych w nich treści. Problem badawczy został przedstawiony przez Autorkę rozprawy w sposób kompetentny i z

wykorzystaniem aktualnej literatury. Badania zostały zaplanowane i wykonane poprawnie, z zastosowaniem analiz z zakresu biologii molekularnej oraz odpowiednich, niekiedy bardzo zaawansowanych, programów komputerowych służących do obróbki tego typu danych. Metody badań zostały opisane w sposób szczegółowy i precyzyjny, szczególnie metody statystyczne użyte do analizy zebranego materiału zostały bardzo szczegółowo opisane. Na rozprawę składają się wyniki analiz genetycznych przy użyciu różnych klas markerów molekularnych podlegających różnym zasadom dziedziczenia. W badaniach Autorka wykorzystała zarówno markery mitochondrialnego DNA (w tym analizowała odcinek regionu kontrolnego oraz cytochrom b) i markery DNA genomowego (w tym markery zlokalizowane na chromosomach płci, mikrosatelity oraz MHC II DRB). Próby do badań zostały zebrane nieinwazyjnymi metodami głównie z terenu Polski, część prób pozyskano również z Litwy i Niemiec. Na podkreślenie zasługuje liczba prób użytych do badań. Do analiz genetycznych wykorzystano aż 609 prób, pochodzących z 29 stanowisk rozmieszczonych na terenie Polski, Litwy i Niemiec. Jak na tego typu badania liczba stanowisk i zebrany materiał są imponujące. Porównanie uzyskanych przez Autorkę wyników z danymi z innych obszarów Europy umożliwiło uzyskanie dodatkowych bardzo cennych i ciekawych wyników. Analiza danych i wnioski Autorki są w większości poprawne, a w miejscach, które mogłyby budzić pewne zastrzeżenia, widzę raczej niejasności prezentacji, a nie istotne niezgodności interpretacyjne. Godne zauważenia jest znakomite opracowanie graficzne rycin i wykresów.

W swojej pracy mgr Magdalena Świsłocka wykazała, że łośie zasiedlające Polskę wywodzą się z kilku linii ewolucyjnych, które skolonizowały obszar naszego kraju z różnych refugium glacialnych. W wyniku tego poziom zmienności genetycznej łośia w Polsce jest wysoki w porównaniu z innymi obszarami Europy, a na terenie Polski północno-wschodniej znajduje się strefa kontaktu różnych linii filogenetycznych. Badania te ponownie podkreślają znaczenie różnych refugium lodowcowych w kształtowaniu zmienności i struktury genetycznej u zwierząt zasiedlających Europę. Obecne zróżnicowanie genetyczne łośia na terenie Polski jest również wynikiem ekspansji tego gatunku ze wschodu na zachód oraz efektem introdukcji łośia ze Szwecji czy Białorusi. Podobnie jak u wielu innych gatunków ssaków Doktorantka stwierdziła większą filopatrię u samic, co potwierdzają analizy markerów molekularnych dziedziczonych w różny sposób.

Do szczególnie istotnych i cennych naukowo dokonań Autorki rozprawy zaliczam wykazanie dużej zmienności mtDNA u łośia. Doktorantka zidentyfikowała siedem nowych w skali Europy wariantów genetycznych mtDNA. Wykazała złożoną strukturę genetyczną na obszarze Europy i wyjaśniła, że była ona kształtowana przez różne czynniki zarówno

naturalne, jak i antropogeniczne. Największy wpływ na obserwowaną obecnie strukturę genetyczną łościa miała kolonizacja obszaru Europy przez potomków osobników pochodzących z nie mniej niż dwóch różnych refugium glacialnych, co prawdopodobnie spowodowało powstanie w europejskiej populacji łościa dwóch haplogrup: Centralna Europa i Ural. Grupy te stanowią odrębne, ewolucyjnie istotne jednostki, które rozdzieliły się prawdopodobnie około 138 000 lat temu. Wyniki tych badań wskazują, że ekspansja demograficzna i przestrzenna kładu Ural była znacznie większa niż kładu Centralna Europa i łoście z tego kładu zasiedlają zdecydowanie większą część europejskiego areału tego gatunku. Kład Centralna Europa dodatkowo dzieli się na trzy grupy (nazwane przez Autorkę: Biebrza, Polesie i Fennoskandia), dwie pierwsze grupy występują tylko w Polsce. Opisane zróżnicowanie genetyczne jest prawdopodobnie wynikiem kolonizacji tego obszaru z kolejnych dwóch refugium (Karpackiego i Bałkańskiego). Autorka wykazała, że utrzymująca się struktura genetyczna łościa w Europie jest wynikiem izolacji geograficznej i środowiskowej.

Ekspansja demograficzna grupy Biebrza nastąpiła prawdopodobnie wcześniej niż ekspansja przestrzenna tej grupy. Wyniki otrzymane przez Doktorantkę dotyczące czasu ekspansji są zgodne z czasem ekspansji dwóch innych gatunków jeleniowatych. Populacja łościa zasiedlająca dolinę Biebrzy charakteryzuje się niską zmiennością mtDNA, z dominacją unikalnego dla tej populacji haplotypu H1, co wskazuje na izolację przestrzenną tej populacji oraz ograniczenie jej liczebności. Autorka wykazała również, że w okresie ostatnich 20 lat w obrębie grupy Biebrza nastąpiła redukcja liczby haplotypów. Jest to szczególnie istotny fakt, ponieważ wyniki uzyskane przez Doktorantkę sugerują, że populacja ta ma reliktowy charakter. Spadek zmienności genetycznej w tak krótkim okresie potwierdza konieczność utworzenia strategii ochrony tego gatunku z wykorzystaniem monitoringu genetycznego.

Uzyskane przez siebie wyniki Autorka przedstawiła na tle szerokiego omówienia danych i informacji pochodzących z opublikowanych prac. W dyskusji Doktorantka w bardzo systematyczny i rzetelny sposób odniosła się do wszystkich najważniejszych rezultatów, które uzyskała. Zwraca uwagę staranność i ostrożność wyciągania wniosków oraz duża rozwaga w interpretowaniu wyników. W pierwszych rozdziałach dyskusji Doktorantka omawia linie filogenetyczne na tle wcześniej opisanych wyników innych autorów, następnie rozważa czynniki kształtujące zmienność genetyczną łościa w Polsce. W kolejnym rozdziale dyskusji omawia reliktowy charakter łościa w dolinie Biebrzy argumentując konieczność wyróżnienia tej populacji jako specjalnej jednostki ochrony i zarządzania. Na koniec Autorka dyskutuje historię ekspansji tego gatunku na terenie Polski. Dyskusja wyników prowadzona jest na tle

liczącej ponad 360 pozycji listy cytowanej literatury, w większości z ostatnich lat. Cytowane piśmiennictwo świadczy o doskonałej znajomości aktualnych trendów w badaniach światowych nie tylko omawianego gatunku, ale w ogóle zagadnień związanych z genetyką populacyjną.

W rozprawie jest niewiele uchybień, które mógłbym Autorce wytknąć. Moje uwagi mają raczej charakter redaktorski i są bardziej zagadnieniami godnymi szerszej dyskusji niż błędami merytorycznymi.

1. Do badań pobierano próby metodami nieinwazyjnymi, w większości zbierano odchody łośi. W opisie metod lub w wynikach brakuje informacji w jaki sposób Autorka rozwiązała problem pobierania materiału genetycznego od tych samych osobników. Jeśli pobierano próbki z tego samego miejsca w kolejnym roku badań, to w jaki sposób Autorka odróżniła osobniki, od których materiał genetyczny został już zebrany? Wykorzystanie tych samych osobników oraz osobników blisko spokrewnionych w niektórych analizach statystycznych mogło mieć znaczący wpływ na otrzymane wyniki.
2. W opisie niektórych wykonanych analiz brak informacji o parametrach modeli wykorzystanych w tych analizach. W analizach struktury genetycznej przy pomocy programu STRUCTURE zabrakło informacji np. o tym, jaki model został wykorzystany i jakie parametry zostały użyte do wyliczenia liczby grup. Wykorzystując różne modele można otrzymać odmienne wyniki.
3. Przedstawiona do oceny rozprawa jest bardzo obszernym opracowaniem. Proporcje pomiędzy poszczególnymi częściami rozprawy doktorskiej są odpowiednie, chociaż wydaje mi się, że w dyskusji Doktorantka powtórzyła dość szczegółowy opis części wyników. Na przykład na stronie 108 Autorka opisała występowanie haplotypu H18 w muzealnych próbach i ponownie dołączyła podobny opis na stronie 109. W wyniku tego dyskusja liczy aż 32 strony.
4. W tak obszernej pracy pojawiły się pewne niejasności przekazu, chociaż jest ich niewiele. Na przykład na stronie 87 Autorka napisała, że „Dla pozostałych 11 loci frekwencja alleli zerowych była akceptowalna”. Wydaje mi się, że zabrakło wyjaśnienia, jaka frekwencja alleli zerowych była akceptowalna. W tekście zdarzają się również niewielkie błędy stylistyczne, na przykład pleonazm „okres czasu” (str. 107, 111), który mnie osobiście bardzo razi.

Powyższe niedociągnięcia nie umniejszają jednak wartości naukowej przedstawionej rozprawy, bardzo łatwo można je poprawić w czasie przygotowywania prac do druku i nie wpływają one na ogólną ocenę pracy.

Podsumowując całość oceny stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Świsłockiej jest bardzo oryginalnym i wnikliwym studium analizującym czynniki kształtujące strukturę genetyczną oraz filogeografię łośia w Polsce. Doktorantka z sukcesem zweryfikowała postawione hipotezy, wykazała się rzetelnością w pracy naukowej, umiejętnością prawidłowego stawiania problemów badawczych, a także planowania badań służących ich rozwiązaniu. Wykazała się również zdolnością dokonywania poprawnej analizy wyników badań, dyskusowania ich w oparciu o literaturę przedmiotu i wyciągania poprawnych wniosków. **Przedstawiona do oceny rozprawa oparta jest na dużym materiale, doskonale zaplanowana, o logicznym układzie, a jej efektem są ważne dla nauki stwierdzenia. Spełnia ona wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz w Ustawie z dnia 18 marca 2011 r. o zmianie ustawy – Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Wnioskuje do Rady Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Świsłockiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego, jednocześnie sugerując przyznanie wyróżnienia Autorce ocenianej rozprawy.**



Dr hab. Andrzej Zalewski