

Dr hab. Elżbieta Cieślak  
Instytut Botaniki im. W. Szafera  
Polskiej Akademii Nauk  
ul. Lubicz 46  
31-512 Kraków

## Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Edyty Jermakowicz

pt. „Phylogeography, genetic diversity and demography of boreal-montane orchid  
*Malaxis monophyllos* (L.) Sw.”

[„Filogeografia, różnorodność genetyczna i demografia borealno-górskiego storczyka  
*Malaxis monophyllos* (L.) Sw.”]

### Formalny aspekt rozprawy

Rozprawa doktorska Pani mgr Edyty Jermakowicz została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Emilii Brzosko (promotor) i dr hab. Ady Wróblewskiej (promotor pomocniczy) na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku. Jej główna część składa się z trzech prac współautorskich w języku angielskim, których Doktorantka jest pierwszym i korespondencyjnym autorem. Prace zostały opublikowane w latach 2015–2017. Dwie z prac są rezultatem projektu badawczego, kierowanego przez mgr Edytę Jermakowicz, przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach z bazy JCR. Jedna z prac ukazała się w ważnym i renomowanym w dziedzinie czasopiśmie – *Botanical Journal of the Linnean Society* (IF 2.52), pozostałe w *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* (IF 1.21) i *Polish Journal of Ecology* (IF 0.50). W przypadku każdego artykułu wkład pracy doktorantki został opisany, potwierdzając jej wiodącą rolę w prowadzonych badaniach i przy powstawaniu poszczególnych publikacji.

Rozprawa obejmuje stronę tytułową, podziękowania, spis treści, streszczenie w języku angielskim i w języku polskim oraz trzy artykuły. Do pracy dołączone zostały oświadczenia wszystkich współautorów.

### Merytoryczny aspekt rozprawy

Prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej mgr Edyty Jermakowicz prezentują dwa nurty badawcze. Jeden dotyczy zastosowania analiz struktury genetycznej współczesnych populacji *Malaxis monophyllos* pod kątem wnioskowania o historii kształtowania się współczesnego zasięgu tego gatunku. Obejmuje również identyfikację zarówno współczesnych centrów różnorodności jak i odrębności genetycznej. Natomiast drugi, oparty o analizę demograficzną populacji *M. monophyllos*, dotyczy ustalenia, które z cech biologicznych tego gatunku, mają wpływ na kształtowanie zmienności i różnorodności genetycznej w skali lokalnej i szerzej – w skali zasięgu. Pod względem geograficznym badania koncentrują się na wyspowych siedliskach w europejskiej części zasięgu *M. monophyllos*.

W ostatnim czasie odnotowano bardzo znaczący rozwój w zakresie badań historii biogeograficznej, dzięki wprowadzeniu metod filogeografii. Analizy oparte o badania molekularne, pozwoliły na uzyskanie nowych i bardzo wartościowych danych oraz testowanie hipotez stawianych już w XIX w. a niemożliwych wcześniej do weryfikacji wskutek braku odpowiednich metod. Dynamiczny rozwój narzędzi badawczych pozwala z jednej strony na eksplorację coraz bardziej kompleksowych danych genetycznych z drugiej natomiast na wykorzystanie coraz lepiej zdefiniowanego i jednoznacznego aparatu analizy statystycznej. Intensywne badania filogeograficzne prowadzone były przede wszystkim dla gatunków o rozmieszczeniu polarnym i cyrkumpolarnym strefy arktycznej i subarktycznej. Natomiast równie interesujące w kontekście historii kształtowania się zasięgów gatunków na półkuli północnej są gatunki, których zasięgi obejmują obszar borealny a ich południowe dysjunkcje w Europie występują na obszarach poglądalnych i w obszarach górskich.

Mgr Edyta Jermakowicz w dwóch pracach podjęła temat filogeografii *Malaxis monophyllos* (L.) Sw., gatunku który reprezentuje element borealno-górski i charakteryzuje się szerokim zasięgiem obejmującym obszar Euroazji i Ameryki Północnej. W obu pracach w celu rekonstrukcji historii biogeograficznej tego gatunku zastosowała techniki molekularne.

W przypadku pracy pt. „Phylogeographical structure of the boreal-montane orchid *Malaxis monophyllos* as a result of multi-directional gene flow” analizę struktury genetycznej oparto na analizie sekwencjonowania chloroplastowego DNA, cpDNA. W pracy tej, ustalenie genetycznych powiązań pomiędzy populacjami w przestrzeni oparto na analizie zmienności i/lub zróżnicowania genetycznego na poziomie populacyjnym i gatunkowym – jako funkcji ich rozmieszczenia geograficznego. Wyniki wykorzystano do odtworzenia historii i ustalenia dynamiki procesów, które doprowadziły do powstania współczesnego zasięgu *M. monophyllos* jak i modelowania dynamiki przyszłych zmian w rozmieszczeniu i zmienności tego gatunku w kontekście zmian klimatu.

W pracy wykazano, że w europejskiej części zasięgu występuje gradientowy rozkład zmienności genetycznej – wyższy poziom charakteryzował populacje z części borealnej w stosunku do tych z poza tego terenu. Brak wyraźnie zdefiniowanego zróżnicowania genetycznego wskazuje, że w tym obszarze nie powstawały trwałe bariery, które doprowadziłyby w dłuższej perspektywie czasowej do przerwania przepływu genów między populacjami tak w skali lokalnej jak i w tej części zasięgu. Wskazano, że brak zróżnicowania genetycznego, jak i przestrzennych wzorców rozmieszczenia haplotypów skutkuje brakiem wyraźnej struktury filogeograficznej *Malaxis monophyllos* w europejskiej części zasięgu. Natomiast wyższy poziom zróżnicowania haplotypów oraz obecność rzadkich haplotypów w populacjach z części borealnej europejskiego zasięgu mogą świadczyć, że potencjalne obszary refugialne tego gatunku znajdują się dopiero w azjatyckiej części zasięgu. Stosunkowo wyrównany poziom zmienności genetycznej w populacjach europejskich sugeruje, że ekspansja gatunku na te tereny miała miejsce stosunkowo niedawno (w okresie późnoglądalnym lub wczesno holoceniowym) a przepływ genów między populacjami zachodził w różnych kierunkach, choć współcześnie są one raczej izolowane. Natomiast modelowanie odnośnie dynamiki przyszłych zmian w rozmieszczeniu i zmienności tego gatunku w kontekście zmian klimatu jednoznacznie wskazuje, że będzie to związane ze

stosunkowo szybkim zanikaniem siedlisk szczególnie w części europejskiej zasięgu i przesunięciem południowej granicy zasięgu w kierunku północnym w obszary cyrkumpolarne.

Natomiast w pracy pt. „Genetic diversity of orchid *Malaxis monophyllos* over European range as an effect of population properties and postglacial colonization”, analizę zmienności genetycznej również w europejskiej części zasięgu oparto o analizę AFLP. W tym przypadku głównym celem pracy było ustalenie na ile rozproszenie przestrzenne populacji (fragmentacja zasięgu) jak również wyraźne różnice siedliskowe między regionami (część borealna i wyżynna w Europie Środkowej) mają wpływ na poziom lokalnej zmienności genetycznej i jej strukturę przestrzenną. Na podstawie analizy zmienności genetycznej wewnątrz i między populacjami badano, czy procesy polegające na różnicowaniu genetycznym wewnątrz populacji powodowane przez mutacje, przepływ genów, dryf genetyczny i selekcję naturalną są warunkowane lokalnymi czynnikami środowiskowymi. Podjęto próbę ustalenia czy zachodzące procesy mikroewolucyjne w nowo powstających populacjach na siedliskach antropogenicznych wpływają na strukturę genetyczną badanego gatunku. Podobnie jak w wypadku studium opartym na analizie zmienności genetycznej na podstawie sekwencjonowania, również w tej pracy nie wykazano wyraźnej struktury filogeograficznej w badanym materiale *Malaxis monophyllos*, obejmującym europejską część zasięgu. Według autorki wzorce zmienności genetycznej wykazane na podstawie wyników analizy AFLP mogą być efektem bardzo szybkiej ekspansji na uwalniane siedliska w Europie w okresie polodowcowym a następnie możliwość wielokierunkowego przepływu genów między populacjami w obrębie zajmowanego obszaru. Autorka wskazuje, że w utrzymaniu stosunkowo wysokiego poziomu zmienności genetycznej w populacjach zasadnicze znaczenie ma system rozmnażania jaki charakteryzuje ten gatunek (rozmnażania płciowe). Jako przykład podaje populacje z siedlisk antropogenicznych, które charakteryzuje bardzo zbliżony poziom zmienności jak populacje z siedlisk naturalnych, pomimo zdecydowanie krótszego trwania w danym miejscu. Autorka wnioskuje, że populacje z siedlisk antropogenicznych w tej części zasięgu mogą być tzw. „tyglami” zmienności tego gatunku i stanowić ważny element w kształtowaniu struktury genetycznej, szczególnie na skraju zasięgu *M. monophyllos*.

Trzecia praca pt. „Demographic responses of boreal-montane orchid *Malaxis monophyllos* (L.) Sw. populations to contrasting environmental conditions” dotyczy odrębnego tematu. W pracy tej akcent położony został na analizę demograficzną populacji z terenu Polski. Analizy oparte były na wynikach eksperymentu prowadzonego w 12 populacjach, które zajmowały naturalne i antropogeniczne siedliska. Wykazano, że we wszystkich populacjach dochodzi do intensywnej wymiany osobników, nie wykazano zróżnicowania genetycznego ani na poziomie populacyjnym, ani regionalnym. Wykazano, że populacje z terenów borealnych i siedlisk naturalnych charakteryzują się wyższym poziomem reprodukcji niż te z siedlisk antropogenicznych.

Prace przedstawione jako cykl stanowiący rozprawę doktorską mgr Edyty Jermakowicz należą do nielicznych z zakresu badań filogeograficznych, w których uwzględniono

stosunkowo szeroki zasięg geograficzny roślin borealnych oraz rozpatrywano czynniki, takie jak historie życiowe, właściwości biologiczne tych taksonów. Dlatego uważam, że podjęty temat jest bardzo aktualny i bardzo dobrze wpisuje się w trwającą w literaturze europejskiej dyskusję o historycznej roli różnych grup czynników i mechanizmach wpływających na aktualny kształt flory na półkuli północnej. Uważam również, że obiekt badań – *Malaxis monophyllos*, został wybrany adekwatnie do podjętego tematu i postawionych celów. Układ i strona graficzna wszystkich prac odpowiadają standardom przyjętym w pracach naukowych. W każdej pracy zarysowano cel główny jak i wskazano cele poboczne. Metodyka badań była dobrana odpowiednio i przeprowadzona zgodnie z obowiązującymi zasadami (zarówno sekwencjonowanie jak i AFLP są rutynowo wykonywane w badaniach filogeograficznych).

Stwierdziłam jednak pewne uchybienia w części dyskusyjnej pracy, wynikające z braku spójności między prezentowanymi wynikami a formułowanymi w dyskusji wnioskami. Szczególnie zaznacza się to w pracy opublikowanej w *Polish Journal of Ecology* i dotyczy fragmentu dyskusji, w którym za stwierdzeniem, że *Malaxis monophyllos* charakteryzuje się brakiem struktury genetycznej, w dalszej części dyskutowane są zagadnienia jakby tego wcześniejszego faktu nie odnotowano. Autorka szeroko dyskutuje na przykład kwestie lokalizacji obszarów refugialnych tego gatunku w Europie. Jako możliwe tereny mikrorefugialne wskazuje obszary Europy północnej i północno-wschodniej. Podobnie jak w przypadku dyskusji o możliwych obszarach refugialnych w Alpach. W prezentowanym temacie, zagadnienia refugium i dyskusja o ich lokalizacji jest jak najbardziej poprawna, tylko, że na podstawie prezentowanych wyników, trudno znaleźć poparcie dla prezentowanych wniosków. Natomiast wskazywanie obszarów azjatyckich, z których nie był uwzględniony materiał do badań jako refugium jest wnioskiem tylko teoretycznym i hipotetycznym. W odniesieniu do postawionego wniosku o braku istotnych różnic w poziomie zmienności genetycznej stwierdzenie, że w obszarach górskich doszło do zdecydowanego zmniejszenia poziomu zmienności w stosunku do obszarów borealnych nie jest w pełni uzasadnione.

Kolejną kwestią jest użyte sformułowanie, że zmniejszenie zmienności genetycznej jest zgodne z „zaobserwowanym globalnie zubożeniem regionów górskich”. Trudno jednak odnieść się do tego wniosku gdyż w pracy kwestia poziomu zmienności w obszarach górskich nie była podejmowana. Brak jest też odniesienia o jaki typ zubożenia obszarów górskich chodzi. Niezręczne jest również sformułowanie, że niedawna migracja na siedliska antropogeniczne musiała zająć z wielu miejsc „źródłowych” podczas gdy w dalszej części wywodu autorka twierdzi, że zasięg europejski należy do bardzo pofragmentowanego i ze względu na duże odległości między populacjami może dojść do zahamowania swobodnego przepływu genów pomiędzy nimi. Brak zdefiniowania o jakie miejsca źródłowe chodzi oraz podanie faktu o pofragmentowanym charakterze zasięgu powoduje, że wniosek jest wątpliwy. W innym miejscu tej pracy autorka wykazuje, że populacje z siedlisk antropogenicznych są ważnym elementem biorącym udział w kształtowaniu wzorców zmienności gatunku. Jednak nie podaje jaka jest rola wspomnianych populacji w tym procesie. Taki wniosek można by podać przy wykazaniu, że np. dochodzi do migracji z tych siedlisk do naturalnych albo, że na zasięgu wyraźnie dochodzi do „wymiany” siedlisk tzn., że przy regresie liczby stanowisk naturalnych odnotowywany jest wzrost stanowisk na siedliskach antropogenicznych.

Na koniec, chcę zwrócić uwagę na pewną niezręczność jaką można wskazać w streszczeniu rozprawy doktorskiej. W tej części rozprawy autorka jako główny cel podała ustalenie genetycznych i demograficznych wzorców zmienności borealno-górskiego gatunku storczyka. Natomiast zastosowanie technik molekularnych, ustalenie genetycznych i demograficznych wzorców zmienności należy raczej rozumieć, że są środkiem do osiągnięcia celu naukowego jakim jest rekonstrukcja historii biogeograficznej badanego gatunku. Tak jak to jest przedstawiane w poszczególnych pracach.

Pragnę podkreślić na zakończenie, że dostrzeżone mankamenty wobec walorów naukowych oraz wagi podjętego tematu nie zmieniają mojej pozytywnej oceny merytorycznej pracy doktorskiej mgr Edyty Jermakowicz. Doktorantka potrafiła przeprowadzić analizę zebranego materiału, opracować wyniki oraz przedstawić je w formie publikacji. Pokazała zdolność pracy w interdyscyplinarnym zespole. Doktorantka wykazała się także umiejętnością syntezy danych, konfrontowania wyników swoich analiz z aktualnym stanem znanym z literatury. Badania wykonane przez Doktorantkę uważam, za bardzo wartościowe i wnoszące znaczący wkład w poznanie historii szaty roślinnej Europy. Jej praca doktorska stanowi ważne uzupełnienie, ciągle skromnych badań odnośnie poznania historii kształtowania się zasięgów gatunków borealnych w Europie szczególnie w kontekście zmian klimatu. Ważne jest też to, że przeprowadzone badania podstawowe, mają charakter aplikacyjny i mogą być w całości wykorzystane np. w opracowywaniu planów w tym zakresie związanych z czynną ochroną badanego gatunku.

### **Konkluzja**

Podsumowując, uważam że rozprawa Pani mgr Edyty Jermakowicz spełnia wszystkie wymogi stawiane przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. nr 65/03 poz 595 z późn. zmianami). Wnioskuje zatem do Rady Naukowej Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pani Edyty Jermakowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 08.03.2017

Elzbieta Cieślak