



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Biologii
Instytut Biologii Funkcjonalnej i Ekologii
Zakład Ekologii
Dr hab. inż. Robert W. Mysłajek



Warszawa, 28.05.2021 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Zofii Korbut Mikołajczyk

pt. Filogeografia i struktura genetyczna populacji chomika europejskiego (*Cricetus cricetus*)
na obszarze potencjalnych refugiów

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa pani mgr Zofii Korbut Mikołajczyk została wykonana na Wydziale Biologii Uniwersytetu w Białymstoku pod kierunkiem dr hab. Agaty N. Banaszek. Promotorem pomocniczym była dr Ewa Oleńska.

Tematyka pracy doktorskiej obejmuje zagadnienia z zakresu filogeografii, genetyki populacyjnej oraz genetyki konserwatorskiej. Jej celem była analiza filogeograficzna i poznanie struktury genetycznej populacji chomika europejskiego (*Cricetus cricetus*) na obszarze potencjalnych refugiów położonych wokół łuku Karpat w Europie Środkowej i Wschodniej. Badania oparte były na trzech klasach markerów molekularnych: sekwencji mitochondrialnego DNA, autosomalnych intronów jądrowych i markerów zlokalizowanych na chromosomie Y oraz zestawu kilkunastu loci mikrosatelitarnych.

Rozprawa doktorska liczy 174 strony i jest klarownie podzielona na rozdziały i podrozdziały. Rozpoczynają ją Podziękowania, Streszczenie i angielskojęzyczny Abstract, po którym następuje Wprowadzenie i Charakterystyka obiektu badań. Następnie doktorantka zwięźle prezentuje cele badań i obszernie opisuje Materiał i metody. Bardzo dobrym redakcyjnym zabiegiem, znacznie ułatwiającym lekturę tak obszernego opracowania, jest wydzielenie trzech odrębnych części poświęconych szczegółowym metodykom i wynikom analiz różnych klas markerów molekularnych. W każdej z tych części zawarto także dyskusje prezentujące uzyskane przez Autorkę wyniki w kontekście wyników badań innych autorów. Rozprawę wieńczy Podsumowanie i wnioski, Spis tabel, Spis rycin i Literatura. Rozprawa doktorska zawiera 12 tabel i jest zilustrowana ponad trzydziestoma rycinami.

Pod względem językowym rozprawę należy ocenić bardzo wysoko. Autorka pisze poprawną polszczyzną, biegle posługuje się określeniami fachowymi, a każde nowe pojęcie wyjaśnia, dodając także dla uniknięcia niejasności jego angielskojęzyczny odpowiednik. Tu drobna sugestia by angielskojęzyczne odpowiedniki pojęć wpisywać tylko raz. Powtórzenia, tak jak to się dzieje np. na str. 51 i 69 w przypadku niedopasowań nukleotydowych (ang. *mismatch distribution*), są zbędne. Warto podkreślić, że pomimo dużej objętości tekstu, rozprawa jest napisana niezmiernie konkretnie, bez zbędnych dygresji i wnikania w niepotrzebne szczegóły. Cytacje są podawane w ujednolicony sposób. W tym miejscu miałbym drobną uwagę dotyczącą przywoływania w jednym miejscu prac tego samego autora. W takim przypadku nie ma potrzeby powtarzania jego nazwiska i roku tak jak to widać na str. 21 (La Haye i wsp. 2010, La Haye i wsp. 2017). W zupełności wystarczy podanie nazwiska autora jeden raz, a następnie wymienienie lat kolejnych publikacji (czyli: La Haye i wsp. 2010, 2017).

We Wprowadzeniu Doktorantka treściwie rysuje tło badań filogeograficznych i dotyczących struktury genetycznej populacji oraz znaczenia takich badań dla ochrony

gatunków. Wyjaśnia przy tym podstawowe mechanizmy kształtujące różnorodność genetyczną populacji, tj. dryf genetycznych, efekt założyciela, efekt wąskiego gardła, topnienie mutacyjne, wsobność etc. Czytelnik ma także okazję zapoznać się z różnymi typami markerów molekularnych i ich użytecznością w badaniach struktury genetycznej, historii demograficznej, pokrewieństwa oraz zmienności genetycznej populacji.

W Charakterystyce obiektu badań Autorka omówiła biologię i zasięg występowania chomika europejskiego, przedstawiła historię zmian zasięgu i wpływające na te zmiany czynniki, omówiła również dotychczasowe badania filogeograficzne nad tym gryzoniem wskazując ich słabe strony. Warto zwrócić w tym miejscu uwagę na nazwy międzynarodowych aktów prawnych przywołane na str. 24. Ich prawidłowy zapis to: *Konwencja o ochronie gatunków dzikiej flory i fauny europejskiej oraz ich siedlisk* oraz *Dyrektywa Rady 92/43/EWG z dnia 21 maja 1992 r. w sprawie ochrony siedlisk przyrodniczych oraz dzikiej fauny i flory*, natomiast określenia *Konwencja Berneńska* oraz *Dyrektywa Siedliskowa* to ich nazwy potoczne. Po nazwach aktów prawnych wpisujemy w nawiasie odpowiedni dziennik urzędowy.

Zarówno cel główny pracy, jak i cele szczegółowe są sformułowane prawidłowo. W tym miejscu zabrakło mi jednak jasno przedstawionych hipotez badawczych.

Przy omówieniu Materiałów i metod Autorka opisuje teren badań, metodykę poboru prób, materiał do badań i liczebność prób, sposób izolacji DNA, weryfikacji gatunkowej i genotypowanie prób, a także analizy statystyczne genotypowania. To ważna część pracy, w której uwidacznia się dbałość Autorki o zachowanie najwyższych standardów zarówno co do sposobów pozyskiwania prób, jak i weryfikacji ich jakości. Autorka wykorzystwała zarówno próby z kolekcji muzealnych, jak i samodzielnie pobierała próby nieinwazyjne stosując specjalne pułapki włosowe. Taki sposób pobierania materiału gwarantuje wysoki poziom ich dobrostanu. Autorka poddała każdą zebraną próbę weryfikacji ustalając przynależność

gatunkową metodami molekularnymi co pozwoliło na pracę na wiarygodnym materiale biologicznym.

W kolejnych częściach rozprawy Autorka skupia się na analizach opartych na poszczególnych typach markerów molekularnych. Każda z tych części podzielona została na Wstęp, Materiał i Metody, Wyniki i Dyskusję. Tym samym każda z nich stanowi niejako samodzielny artykuł naukowy. Tak jak podkreśliłem wcześniej zabieg ten ułatwia lekturę rozprawy. Stanowiąc będzie zapewne także podstawę do przygotowania opartych na tym materiale artykułów naukowych, co zważywszy na wysoką jakość badań nastąpić winno niezwłocznie.

W Części I Doktorantka analizuje filogeografię chomika europejskiego na obszarze potencjalnych refugium w oparciu o trzy sekwencje mitochondrialnego DNA (*ctr*, *16S* oraz *cytb*). Ta obszerna i wnikliwa analiza, poparta dogłębными analizami statystycznymi. Uzyskane wyniki wskazują na to, że odrębne linie filogeograficzne tworzą jedynie linie Pannonia i Północna, natomiast wyodrębniane wskazywanej we wcześniejszych pracach linii E0 i E1 nie ma uzasadnienia. To ważny wynik pokazujący wagę szerokoskalowych badań genetycznych.

W Części II doktorantka kontynuuje analizy filogeograficzne chomika europejskiego w oparciu o sekwencje intronów jądrowych i markerów zlokalizowanych na chromosomie Y. Należy docenić tę część ponieważ stosunkowo rzadko sekwencje z chromosomu Y są w tego typu analizach wykorzystywane na szerszą skalę. Dużą rolę odgrywa tu trudność z identyfikacją odpowiednich markerów oraz kłopoty z ich powielaniem. Do tej pory linie mtDNA chomika europejskiego nie były w ten sposób badane, jest to więc zdecydowanie nowe i oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Podobnie jak to zaobserwowano w analizach sekwencji z chromosomu Y u innych gatunków, uzyskane wyniki potwierdziły niską poziom ich zmienności u chomika europejskiego – spośród analizowanych sekwencji

dwie okazały się wręcz monomorficzne. Uzyskane w tej części wyniki nie odzwierciedlały genealogii wyznaczonych na podstawie analiz sekwencji mtDNA. Autorka wnikliwie omawia ten fenomen w Dyskusji.

W Części III Doktorantka analizuje strukturę genetyczną populacji chomika europejskiego na podstawie starannie zweryfikowanego zestawu loci mikrosatelitarnych (z pierwotnego zestawu 17 loci wykluczono loci powielające się słabo, sprawiające trudności w ustaleniu alleli lub też wykazujące allele zerowe). Podobnie jak Część I oparta na mtDNA Część III jest również bardzo obszerna, oparta na dogłębnych analizach statystycznych. Tu również Autorka uzyskuje wyniki weryfikujące rezultaty wcześniejszych prac poszerzając tym samym wiedzę na temat rzeczywistego obrazu struktury genetycznej chomika europejskiego. W Dyskusji szczegółowo wyjaśnia przyczyny tych rozbieżności. Ta krytyczna analiza jest ważną częścią rozprawy.

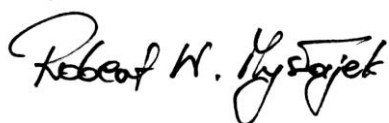
W Podsumowaniu i Wnioskach Autorka rekapitułuje rezultaty swoich analiz, wskazuje również działania służące ochronie badanego gatunku. Istotnym osiągnięciem jest identyfikacja populacji o najwyższych wartościach różnorodności haplotypowej mtDNA. Jest to cenna wskazówka dla programów reintrodukcji lub zasilania populacji zanikających, a także dla ewentualnego pochodzenia osobników utrzymywanych w hodowlach służących przyszłym zabiegom ochronnym. Jest to szczególnie istotne w świetle wcześniejszych doświadczeń, gdy w hodowli prowadzonej w Niemczech niska różnorodność genetyczna osobników doprowadziła do spadku rozrodczości, akumulacji szkodliwych mutacji i wzrostu odsetka osobników cierpiących na nowotwory.

W swojej rozprawie doktorskiej pani mgr Zofia Korbut Mikołajczyk przywołuje ponad dwieście prac naukowych dotyczących zagadnień metodycznych, omawiających mechanizmy kształtujące zmienność różnorodności genetycznej, prezentujących wyniki wcześniejszych prac nad genetyką chomika europejskiego oraz innych gatunków. Są to w większości pozycje

opublikowane w międzynarodowych czasopismach naukowych. Pokazuje to, że Doktorantka ze swobodą wykorzystuje dorobek swojej dyscypliny naukowej. Potrafi przedstawić wyniki własnych analiz na szerokim tle wcześniejszych badań i co niezmiernie ważne krytycznie zweryfikować zarówno wyniki własne, jak i rezultaty badań w przywoływanych przez siebie pracach. Świadczy to o jej dojrzałości jako badacza.

Reasumując, biorąc pod uwagę fakt, że przedstawiona rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie ważnego problemu naukowego, pokazuje szeroką teoretyczną wiedzę Doktorantki i udowadnia umiejętność samodzielnego prowadzenia przez nią pracy naukowej stwierdzam, że praca pani mgr Zofii Korbut Mikołajczyk pt. *Filogeografia i struktura genetyczna populacji chomika europejskiego (Cricetus cricetus) na obszarze potencjalnych refugium* spełnia warunki określone w art. 13 ust 1 *Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Zwracam się więc do Rada Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu w Białymstoku z wnioskiem o dopuszczenie pani mgr Zofii Korbut Mikołajczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na uzyskanie istotnych wyników naukowych, ważnych także z punktu widzenia ochrony badanego przez nią gatunku, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pani mgr Zofii Korbut Mikołajczyk.



Dr hab. inż. Robert W. Mysłajek