



Białowieża, 6 grudnia 2022 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Kozyry-Zyskowskiej
p.t. „Historyczno-geograficzne przyczyny zmienności genetycznej myszy polnej
Apodemus agrarius (Pallas, 1771)”**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani inż. Katarzyny Kozyry-Zyskowskiej zatytułowana „Historyczno-geograficzne przyczyny zmienności genetycznej myszy polnej *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771)” opisuje wyniki otrzymane w wyniku połączenia tradycyjnych analiz genetycznych z technikami modelowania zasięgu i danymi pochodzącymi z materiałów kopalnych.

Autorka rozprawy wskazała kilka głównych, wciąż niewyjaśnionych zagadnień dotyczących badanego gatunku, łączących filogenezę, filogeografię i genetykę populacyjną, które zostały przez nią wyznaczone jako cele badawcze:

1. Określenie struktury genetycznej myszy polnej w obrębie euroazjatyckiego zasięgu gatunku, w oparciu o analizę sekwencji mitochondrialnego DNA;
2. Rekonstrukcja procesu specjacji myszy polnej wraz z oceną czasu dywergencji gatunku i analiza czynników klimatyczno-środowiskowych warunkujących radiację całego rodzaju *Apodemus*;
3. Analiza procesu dywergencji zidentyfikowanych linii genetycznych myszy polnej w odniesieniu do plejstocénskich zmian klimatycznych;
4. Określenie czynników warunkujących aktualną strukturę genetyczną gatunku i rozkład przestrzenny zidentyfikowanych linii genetycznych, przy wsparciu modeli predyktywnego zasięgu zidentyfikowanych linii filogenetycznych;
5. Rekonstrukcja refugium gatunku na podstawie wyników analiz genetycznych i modeli predyktywnego zasięgu gatunku;
6. Określenie struktury genetycznej środkowoeuropejskiej populacji myszy polnej;
7. Analiza przestrzenna struktury genetycznej myszy polnej, w odniesieniu do tradycyjnej taksonomii gatunku.

Rozprawa liczy 198 stron, na które składa się: Streszczenie/Summary, 6 rozdziałów (1. Wstęp; 2. Materiały i metody; 3. Wyniki; 4. Dyskusja; 5. Podsumowanie), Literatury oraz 11 załączników i Wykazu ilustracji.

Rozprawa doktorska przygotowana została w Katedrze Genetyki Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu pod kierunkiem dr hab. Heliodora Wierzbickiego, prof. UP (promotor główny) oraz dr Magdaleny Moski (promotor pomocniczy).

Rozdział 1 (Wstęp) zawiera szczegółowe i wyczerpujące omówienie systematyki myszy polnej (*Apodemus agrarius*), jej zasięgu geograficznego gatunku, wyniki dotychczasowych badań cytogenetycznych rodzaju *Apodemus* oraz opartej na nich filogenezie. Następnie omówione zostały: zróżnicowanie genetyczne – w oparciu o analizy mitochondrialnego DNA oraz struktura populacji myszy polnej – na podstawie analizy markerów mikrosatelitarnych. Natępnie autorka omawia, opierając się na bogatym piśmiennictwie, filogeografię gatunku. Sprawnie i wyczerpująco omawia refugia glacialne na obszarze Palearktyki oraz refugia glacialne rodzaju *Apodemus*, potencjalne refugia glacialne myszy polnej a także post-glacialne strefy hybrydowe, podkreślając znaczenie łączenia różnych danych do modelowania potencjalnych zasięgów gatunków w czwartorzędzie. Opis aktualnego stanu wiedzy przeprowadzony został rzetelnie, zabrakło mi, wykazania, które aspekty wymagają dodatkowych analiz, już przy omawianiu w/w zagadnień. Ułatwiłoby to znacznie ocenę zasadności badań. Rozdział kończy przedstawienie celów badawczych.

Rozdział 2 (Materiał i metody)

Autorka zgromadziła znaczący materiał genetyczny, pochodzący z Mongolii, Niemiec, Czech, Słowacji i Polski., częściowo był to materiał muzealny, częściowo pozyskany w terenie, wszystkie próby pochodziły z ostatnich 20 lat, co dawało szansę na wiarygodne porównanie genotypów myszy pochodzących w różnych lokalizacji. Analizowanych było 13 markerów mikrosatelitarnych (na 210 próbach z dostępnych 361) oraz sekwencje cyt *b* (183 próby własne oraz sekwencje dostępne w GenBanku (nie podsumowana przez autorkę liczba).

Materiał genetyczny pozyskiwany był w sposób nieinwazyjny, poprzez wyrwanie kilku włosów z cebulkami. Ta bezkrwawa metoda jest często stosowana i jest dobrym źródłem DNA, jednak DNA pozyskiwany z cebulek włosów uważany jest za “trudny”: jest go mało i może być częściowo zdegradowany. Aby wykluczyć tzw. wypadanie alleli, w przypadku tzw. trudnego DNA zalecane jest kilkukrotne powtarzanie namnażania lub nawet izolacji DNA.

Czy autorka mogłaby wyjaśnić, czy i w jaki sposób zabezpieczyła się przed uzyskaniem fałszywych wyników?

W jakim celu metodycznym stosowany był do analizy struktury populacji parameter F_{IS} ? Czy chodziło o oszacowanie poziomu inbrodu populacji ?

Sposób przeprowadzenia przez Autorkę poszczególnych analiz, w tym predykcyjnych, wybór obserwowanych parametrów zostały opisane bardzo dokładnie, szczegółowo, dobór narzędzi do uzyskania poszczególnych celów jest właściwy i świadczy o wiedzy i umiejętnościach .

Rozdział 3 (Wyniki). Wyniki analiz mtDNA opisane są w sposób niezwykle szczegółowy, być może ta szczegółowość momentami utrudnia percepcję ogromu podanych informacji. Ich część mogłaby być przeniesiona do tabel, a omówione mogłyby być tylko trendy, z zyskiem dla czytelności przekazu. Podział na linie filogenetyczne (L) i populacje/grupy genetyczne (C), z czego jedno i drugie zwane są zamiennie liniami lub kładami, jest dość nieczytelny. Proszę wyjaśnić, na czym konkretnie opierał się ten podział, nie trafiłam na taką informację w tekście rozprawy.

Część grafik nie jest samoobjaśniająca się (np. ryc 7 i 8). Kolory użyte do wizualizacji linii filogenetycznych, czy kierunków ekspansji gatunku bywają nie do odróżnienia (ryc. 5, 6, 9, 11, 12, 16). Uwagi te, rzecz jasna, nie mają służyć łajaniu autorki a jedynie wskazaniu potrzeby poprawienia czytelności grafik przy przygotowywaniu publikacji.

Wyczerpująco, ale niezwykle przejrzysto zaprezentowane zostały, dla równowagi, wyniki analiz dywergencji gatunku, wyniki analizy struktury genetycznej na podstawie markerów mikrosatelitarnych oraz wyniki modelowania nisz siedliskowych myszy polnej.

Rozdział 4 (Dyskusja) umiejscawia otrzymane wyniki na tle dotychczasowej wiedzy, uzyskanej z danych kopalnych, analiz liczby i struktury chromosomów.

Badania własne przedstawione przez Autorkę dostarczyły ogromnej ilości danych, które zostały wykorzystane do opisu współczesnej populacji myszy polnej *Apodemus agrarius* ale także do rekonstrukcji historii gatunku oraz sposobów i czynników dyspersji tego gatunku z Azji do Europy.

Rozdział 9 (Podsumowanie) zawiera najważniejsze osiągnięcia projektu.

Wyniki badań genetycznych projektu potwierdzają azjatyckie pochodzenie myszy polnej *Apodemus agrarius* oraz jej odrębność wobec myszy chińskiej *Apodemus agrarius chevrieri*.

Podważają one także zasadność wyznaczania licznych podgatunków, wskazując, że znaczna część różnic może mieć podłoże adaptacyjne.

Wyniki badań Autorki wskazują na możliwość dwukrotnej kolonizacji Europy przez mysz polną, co sugerowały także wcześniejsze analizy materiału kopalnego.

Połączenie badań genetycznych i modelowania predyktywnego umożliwiło wyjaśnienie systematyki gatunku, rekonstrukcję jego historii a także wykazanie ścisłego związku jego dyspersji ze zmianami klimatycznymi i zmianami poziomu morza.

Autorce udało się osiągnąć zaplanowane cele badawcze.

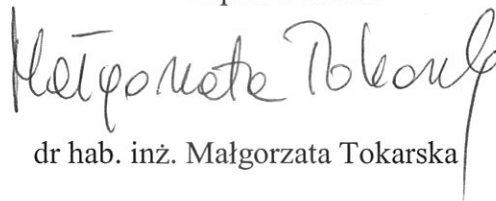
Rozprawa została przygotowana bardzo starannie, oceniam ją bardzo wysoko. Drobne niedociągnięcia czytelności rycin i ogromny, momentami, natłok szczegółowych informacji to w zasadzie jedyne wyłapane przez mnie drobne mankamenty.

Przedstawiona tematyka mieści się w zakresie badań podstawowych. Autorka wykonała imponującą pracę, wymagającą znajomości zróżnicowanych metod i technik analiztycznych. Tak wykonane badania mogą być wzorem dla wielu podobnych rekonstrukcji gatunkowych.

Rozprawa zredagowana jest, mimo drobnych uwag, przejrzystie, napisana czytelnie i zrozumiale. Autorka ze swobodą i łatwością porusza się w obrębie prezentowanej problematyki.

Przedstawiona mi do recenzji dysertacja doktorska jest przygotowana niezwykle rzetelnie i spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Z powodów wyliczonych w powyższym akapicie oraz ze względu na odwagę podjęcia multidyscyplinarnych badań, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Z poważaniem



dr hab. inż. Małgorzata Tokarska