

Prof. dr hab. Wanda Olech-Piasecka
Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie

Ocena

pracy doktorskiej mgr KATARZYNY SIENKO

pt. "Genetic diversity of the common shrew *Sorex araneus* and the pygmy shrew *Sorex minutus* in Poland and southern Sweden"

wykonanej pod kierunkiem

dr hab. Heliodora Wierzbickiego, prof. UP we Wrocławiu

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje łącznie 95 stron maszynopisu, 31 tabel, 24 rysunków i wykresów, podzielonych na logiczne podrozdziały ułatwiające czytanie i analizę zawartych w pracy wyników. Do pracy dodano spis rysunków i wykresów, spis tabel oraz 13 załączników. Spis piśmiennictwa obejmuje 129 pozycji literatury, głównie obcojęzycznej.

W pierwszym rozdziale *Wstęp* Autorka przedstawia biologię i taksonomię dwóch gatunków ryjówek, którymi zajmowała się w pracy. Obszernie opisuje ciekawy problem ras chromosomowych charakterystycznych dla *Sorex araneus*. Na końcu tego rozdziału Autorka formułuje cele pracy, w której chce poznać strukturę genetyczną polskiej i szwedzkiej populacji ryjówek w obrębie mitochondrialnego DNA jak również przy zastosowaniu markerów mikrosatelitarnych. Autorka podaje, że zamierza przeprowadzić również analizę filogenetyczną. Dodatkowo postanawia, jako cel pracy, określić liczbę grup w badanej próbie osobników.

W kolejnym rozdziale *Materiał i metody* znajdują się informacje o liczbie i o miejscu pozyskania prób do badań. Materiał został zebrany z dużej liczby lokalizacji, z 10 populacji w przypadku ryjówki aksamitnej *Sorex araneus* i 6 w przypadku ryjówki malutkiej *Sorex minutus*. Pomimo dużej liczby pozyskanych prób niektóre populacje reprezentowane są przez niewielką liczbę osobników. Wydaje się, że ta nierównomierna reprezentacja różnych populacji może mieć wpływ na uzyskane wyniki, a potem wnioski. Zaskakującym jest wybór małej liczby osobników każdego gatunku do oceny polimorfizmu mitochondrialnego DNA. W tabeli 3 oraz 4 podane są lokalizacje badanego materiału, natomiast brak jest informacji, które lokalizacje i dlaczego reprezentowane są przez więcej niż jednego osobnika, choć na pierwsze pytanie można znaleźć odpowiedź w

późniejszych tabelach i załącznikach do pracy. W dalszej części rozdziału przedstawione są metody izolacji DNA, amplifikacji i oceny polimorfizmu. Omówione są metody statystyczne służące ocenie polimorfizmu i podobieństwa między populacjami.

Kolejnym rozdziałem w pracy są *Wyniki* podzielone na prezentację oceny zmienności mikrosatelitarnej i mitochondrialnego DNA. W populacji ryjówki aksamitnej wśród zbadanych 110 osobników Autorka stwierdziła dużą zmienność, w *locus* L9 stwierdzono aż 47 alleli, a w pozostałych *loci* liczba alleli jest mniejsza, choć dla czterech markerów powyżej 20 alleli. Taka duża liczba alleli powoduje pytanie, czy liczba osobników z każdej lokalizacji jest wystarczająca, aby mogły one reprezentować zmienność populacji źródłowej. Szczególnie to pytanie powstaje przy części dotyczącej mitochondrialnego DNA. Czy liczebność do tej części pracy z poszczególnych populacji wynikała ze zmienności mikrosatelitarnej? Na podstawie tabeli 6 można zauważyć, że liczba alleli w *locus* sprzężonym z chromosomem Y w danej lokalizacji jest silnie związana z liczbą analizowanych samców.

W kolejnej części rozdziału przedstawione są bardzo obszernie wyniki mikrosatelitarnego polimorfizmu pomiędzy populacjami, pomiędzy rasami chromosomowymi jak i w obrębie populacji. Interesujące jest wykazanie ponad 90% zmienności w obrębie populacji i nie stwierdzono zróżnicowania między zarówno rasami chromosomowymi jak i grupami kariotypowymi, co wskazuje na przyczynę dużej zmienności w obrębie lokalizacji. Brak wyników AMOVA dla oceny zróżnicowania między krajami, co podkreśliłoby dystans między szwedzkimi i polskimi populacjami. Widoczny jest on wyraźnie w przeprowadzonym podziale na klastry. Autorka uważa, że najbardziej właściwy jest podział na trzy klastry, ale przy tej liczbie grup również wskazuje na duże podobieństwo polskich populacji a zróżnicowanie raczej między krajami. W wynikach programu STRUCTURE jest wyraźnie widoczny podział na dwie części, na szwedzkie i polskie populacje. Wyniki analizy mitochondrialnego DNA pokazują bardzo duże zróżnicowanie w obrębie gatunku, skoro wśród 21 zbadanych osobników stwierdzono 17 haplotypów. Analizowanie podobieństwa czy różnic między populacjami, rasami i grupami kariotypowymi wydaje się być w przypadku mtDNA trochę nieuprawnione.

Wyniki dla populacji ryjówki malutkiej są przedstawione wyczerpująco, a wynika z nich podobnie jak dla ryjówki aksamitnej spore zróżnicowanie w obrębie populacji jak i między populacjami. Zmienność mikrosatelitarna jest duża, stwierdzono w połowie *loci* liczba alleli przekracza 15, a globalna liczba alleli w polskich i szwedzkich populacjach jest podobna. Spodziewane, ale interesujące jest potwierdzenie odmienności populacji rozdzielonej barierą morza. Czy w tabeli 27 liczba migrantów między populacjami Wejherowc i Smerek jest prawidłowa? Zastanawia bardzo mała liczba alleli w *locus* na chromosomie Y w porównaniu do drugiego gatunku? Ocena mitochondrialnego DNA

powoduje te same pytania jak w stosunku do ryjówki aksamitnej, czy liczebność jest wystarczająca, szczególnie z lokalizacji o dużej zmienności.

Uzyskane wyniki mtDNA powinny być zarejestrowane w banku sekwencji, gdyż praktycznie przyczyniają się do zwiększenia liczby informacji o zmienności obydwu gatunków, ale nie upoważniają do daleko idących porównań.

Na podstawie wyników przedstawionych w tabeli 8 oraz 24, porównujące statystyki F dla polskich i szwedzkich populacji (F_{IS}) nie jest jasne co oznacza wartość F_{IS} dla wszystkich populacji i w jaki sposób możliwe jest oznaczenie tej wartości jako istotnych, to znaczy jaka hipoteza była weryfikowana?

W kolejnym rozdziale *Dyskusja* Autorka przeprowadza ocenę uzyskanych przez siebie wyników na tle danych z literatury. W opisywanych rozważaniach zwraca uwagę bardzo dobra znajomość problemu i prawidłowość wyboru cytowanych prac, co w efekcie pozwala na umiejętną ocenę własnych wyników. Ciekawe zagadnienie poruszone w tym rozdziale to kwestia istnienia lub nie barier pomiędzy populacjami. Autorka przytacza prace, na podstawie których można stwierdzić, że rzeka nie jest barierą, a szczyty gór taka barierę stanowią. Powstaje pytanie o optymalną dla gatunku wysokość nad poziomem morza, czy nie jest ona powiązana z nie przekraczaniem szczytów?

Praca kończy się rozdziałem zatytułowanym *Wnioski*, zawierającym 15 stwierdzeń podsumowujących przeprowadzone badania. Liczba stwierdzeń jest duża i wydaje się, że rozdział powinien mieć nazwę *Podsumowanie*. Wnioski dotyczą różnic między populacjami szwedzkimi i polskimi, dużej zmienności w obrębie populacji i braku różnic między rasami i grupami kariotypowymi dla ryjówki aksamitnej.

Podsumowując uważam, że przedstawione w pracy badania są na wysokim poziomie i mają duże znaczenie poznawcze. Obejmują one wyczerpująco przedstawiony problem, analizowany z różnej strony, a Autorka przeprowadza w pracy wyczerpującą dyskusję własnych wyników. Zastanawia jedynie czemu praca podzielona jest na badania dotyczące dwóch gatunków, gdyż właściwie brakuje łącznego podsumowania wyników, czy innego łącznika. Równie dobrze każdy z gatunków mógłby być przedmiotem odrębnej pracy.

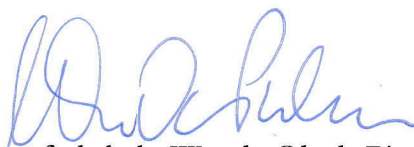
Praca jest bardzo starannie przygotowana, wykresy i ryciny są czytelne i oddają prawidłowo prezentowane wyniki. Nie ma błędów literowych i interpunkcyjnych, a język jest bardzo przejrzysty i czytelny. A co ważne, informacje podawane są konkretnie i w celowy sposób. Czytelność, przejrzystość i jakość dyskusji i prezentacji wyników zasługuje na najwyższe uznanie. Z obowiązku recenzenta wynikało zadanie kilku pytań do powstałych wątpliwości.

Wszystkie wymienione powyżej uwagi, w mojej opinii, nie umniejszają w żaden sposób wartości merytorycznej rozprawy. Uważam, że Autorka wykonała obszerne badania i wykazała się dojrzałością, którą w pełni zaprezentowała w pracy. Należy podkreślić

wysoką jakość języka oraz bardzo dobre prezentowanie własnych wyników na tle licznych cytowanych badań.

Jestem przekonana, że praca doktorska mgr Katarzyny Sieńko stanowi wystarczającą podstawę do ubiegania się o nadanie jej stopnia naukowego doktora. Stwierdzam, biorąc pod uwagę merytoryczną wartość ocenianej rozprawy, że spełnia ona wymagania określone ustawą „o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 roku, stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora. Wnoszę, zatem do Wysokiej Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie mgr Katarzyny Sieńko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa 21 maja 2017 r.



prof. dr hab. Wanda Olech-Piasecka