

Prof. nadzw. dr hab. Rafał Kowalczyk
Instytut Biologii Ssaków PAN
17-230 Białowieża
e-mail: rkowal@ibs.bialowieza.pl
tel. 85 682 77 84

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Joanny Iwony Kochan
pt. „Charakterystyka genetyczna populacji borsuka *Meles meles* (Linnaeus,
1758) w wybranych krajach Europy Środkowej”
wykonanej na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu
Przyrodniczego we Wrocławiu pod kierunkiem dr hab. Wojciecha
Kruszyńskiego i dr Tomasza Strzały

W przedstawionej mi do oceny rozprawie doktorskiej autorka zajmuje się analizą genetyczną populacji borsuków w Europie Środkowej w oparciu o sekwencje mikrosatelitarne oraz mitochondrialne DNA. Na podstawie sekwencji mikro-satelitarnych określono zróżnicowanie oraz strukturę genetyczną borsuków w wybranych krajach Europy Środkowej a na podstawie analizy sekwencji regionu kontrolnego mtDNA określono polimorfizm w obrębie tego regionu na terenie Polski oraz przeprowadzono filogenetyczną analizę populacji borsuka. Autorka przeanalizowała genotypy w 16 loci mikrosatelitarnych, co jest liczbą stosunkowo wysoką w tego rodzaju analizach. Badania autorki wpisują się we współczesny nurt genetyki populacyjnej i filogeografii. Zmienność genetyczna oraz filogeografia borsuka były dotychczas dość rzadko badane, co dodatkowo podnosi wartość recenzowanej rozprawy.

W badaniach wykryto 7 haplotypów w tym 2 haplotypy unikalne i nie stwierdzono znacznego zróżnicowania w obrębie mtDNA na terenie Polski. Natomiast analiza sekwencji mikrosatelitarnych wykazała, że borsuki na terenie Europy Środkowej charakteryzują się umiarkowanym poziomem heterozygotyczności i bogactwem allelicznym. Dystans genetyczny pomiędzy wyodrębnionymi populacjami obliczony na podstawie współczynnika F_{st} był isotny statystycznie choć nie stwierdzono zależności między dystansem genetycznym a geograficznym. Analiza struktury genetycznej wykazała istnienie trzech grup genetycznych na terenie Europy Środkowej. Autorka konkluduje, że kształtowanie się takiej struktury było wynikiem czynników antropogenicznych.

Rozprawa zawiera 64 strony i ma typowy układ. Napisana jest jasnym językiem, a ryciny, tabele i załączniki dobrze opisane i przejrzyste. Wstęp i dyskusja zawierają szeroki przegląd literatury dotyczącej gatunku jak i zagadnień związanych z szeroko rozumianą genetyką populacyjną i filogeografią. Metodyka badań jest przedstawiona szczegółowo, badania są dobrze zaplanowane i wykonane. Wykorzystane narzędzia oraz programy pozwoliły na szczegółową analizę zgromadzonego materiału oraz interpretację wyników. Rozprawa oparta jest na dość pokaźnym materiale zawierającym 172 próby genetyczne mięśni i włosów borsuka pozyskanych z terenu 5 krajów Europy Środkowej. Wysiłek zgromadzenia takiego materiału zasługuje na uznanie, ze względu na fakt iż borsuk w większości krajów europejskich podlega ochronie, a w Polsce mimo, że jest gatunkiem

łownym, pozyskiwany jest stosunkowo rzadko. Publikacje dotyczące genetyki borsuka z obszaru Eurazji rzadko włączały ponad 100 osobników. Pewnym mankamentem jest przestrzenne rozmieszczenie prób genetycznych (od pojedynczych do ponad 20 zebranych z niewielkiego obszaru), co może nieznacznie wpływać na uzyskane wyniki w tym liczbę i rozmieszczenie stwierdzonych haplotypów, liczbę alleli w locus czy bogactwo alleliczne.

W rozprawie analizowane są populacje z Polski Wschodniej i Polski Zachodniej, jednak ani w tekście ani w tabelach i rycinach brak jest informacji, jak te populacje wyodrębniono i które próby genetyczne zebrane z Polski do nich należą. Ponadto Doktorantka nie wyjaśnia dlaczego analiza mtDNA nie obejmuje prób spoza Polski. Włączenie tych prób do analizy mogłoby je wzbogacić i wzmocnić wnioskowanie oparte na wynikach analizy.

Wyodrębnianie populacji białowieskiej jako „odrębnej jednostki ewolucyjnej” wydaje się za daleko posunięte. Wyznaczona przy pomocy programu STRUCTURE najbardziej optymalna liczba klastrow wynosiła 3, grupując populację białowieską z innymi osobnikami z Polski północno-wschodniej. Ponadto analiza filogenetyczna wykazała istnienie na terenie Europy Środkowej jednej grupy filogenetycznej (Rycina 14), a autorka we Wnioskach stwierdza, że osobniki z Polski zachodniej i wschodniej nie są izolowane przestrzennie i mogą być łączone w ramach jednej metapopulacji. Zalecanie szczególnej ochrony populacji białowieskiej i uwzględnianie jej jako niezależnej jednostki ewolucyjnej nie ma według mnie uzasadnienia, zwłaszcza przy braku wiedzy na temat populacji zasiedlających obszary na wschód od Puszczy Białowieskiej, które nie były badane. Wydaje się celowe rozszerzenie badań dotyczących zmienności genetycznej i filogeografii borsuka na Europę Wschodnią.

Na stronie 36 Dyskusji autorka wskazuje, że „dużym niebezpieczeństwem dla populacji borsuka w Polsce może okazać się zatem dalsze wylesianie, które w konsekwencji może doprowadzić do utraty potencjalnych miejsc na nory”. Obawa ta wydaje się nie mieć uzasadnienia, ze względu na wzrastającą lesistość Polski oraz fakt, że zagęszczenia borsuków są najwyższe na Wyspach Brytyjskich, gdzie lesistość jest stosunkowo niska.

W pkt 2. Wniosków do Rozprawy autorka stwierdza, że na „strukturę genetyczną gatunku w Europie Środkowej prawdopodobnie wpłynęły zarówno wydarzenia historyczne, jaki i czynniki pochodzenia antropogenicznego (pozyskanie łoświeckie i fragmentacja środowiska). Jest to według mojej oceny stwierdzenie zbyt ogólne i nie specjalnie mające poparcie w ewidencji naukowej. O ile można zgodzić się, że fragmentacja środowisk leśnym może mieć pewne znaczenie, choć w Europie Zachodniej borsuki zasiedlają obszary mozaiki łąk i pól oraz lasów a także środowiska podmiejskie i miejskie, o tyle trudno znaleźć związek między strukturą genetyczną borsuków a wydarzeniami historycznymi.

Na poziomie przygotowywania maszynopisów artykułów z rozprawy warto rozważyć, przy wyodrębnieniu bardziej zwartych populacji (Puszcza Białowieska, Elbląg, woj. lubelskie, woj. opolskie), przeprowadzenie dodatkowych analiz środowiskowych pozwalających wychwycić efekty barierowe (np. znaczne dolesienie obszaru) oraz wpływ struktury środowiska na dystans genetyczny. Ponadto bardzo cenne byłoby rozszerzenie analiz mtDNA z wykorzystaniem dostępnych prób spoza Polski. Zastosowanie programu ARLEQUIN pozwoliłoby dokonać analizy dynamiki populacji borsuków w przeszłości oraz poszukiwanie dowodów na ekspansję linii mtDNA z potencjalnych refugium glacialnych.

Inne uwagi:

- na stronie 34 autorka używa pojęcia: efekt „szyjki od butelki”, która jest dosłownym tłumaczeniem angielskiej nazwy „*bottleneck*”. W polskim nazewnictwie używa się raczej terminu „wąskie gardło”.

- na tej samej stronie autorka wskazuje na dodatnią korelację między dystansem genetycznym i geograficznym (mimo braku istotności statystycznej), choć wartość współczynnika regresji na poziomie 0,06 wskazuje na bardzo nikłą zależność. Analiza zależności współczynnika F_{ij} i dystansu geograficznego dla populacji z Niemiec, Polski Wschodniej, Zachodniej oraz Białowieży, mimo wskazanej istotności statystycznej, jest na średnim poziomie -0,01, co również wskazuje na nikłą zależność. Ponadto należałoby tu podać zakres współczynników regresji niż ich średnią i odchylenie standardowe.

- moim zdaniem Doktorantka powinna podać informacje o sekwencjach (haplotypach) pozyskanych z GenBank do analizy filogenetycznej w odrębnej tabeli w Załącznikach. W podpisie Ryciny 14 powinna być umieszczona ponadto informacja o grupie zewnętrznej (ang. outgroup). Dopiero po sprawdzeniu w GenBank można zorientować się, że grupę zewnętrzną w tym przypadku stanowią trzy sekwencje pochodzące od łasicy (*Mustela nivalis*).

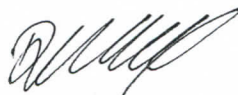
Mimo powyżej wymienionych niedociągnięć, rozprawę doktorską mgr Joanny Kochan oceniam pozytywnie. Doktorantka wykazała się umiejętnością planowania badań naukowych, dokonywania poprawnej analizy uzyskanych wyników i dyskusowania ich w oparciu o literaturę. Materiał z rozprawy może być podstawą oryginalnych prac publikowanych w czasopiśmie naukowych.

Wniosek końcowy

Konkludując, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Joanny Iwony Kochan pt. „Charakterystyka genetyczna populacji borsuka *Meles meles* (Linnaeus, 1758) w wybranych krajach Europy Środkowej” spełnia warunki, o których mowa w art. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. nr 65, poz. 595; ze zm. w Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455).

Zwracam się zatem do Rady Naukowej Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pani mgr Joanny Iwony Kochan do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Białowieża, 16.04.2014 r.



Dr hab. Rafał Kowalczyk