

Prof. dr hab. Witold Wachowiak  
Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu  
Wydział Biologii  
Instytut Biologii Środowiska  
Zakład Ekologii Roślin i Ochrony Środowiska  
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6  
61-614 Poznań

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Katarzyny Mayzy  
pt. „**Procesy ewolucyjne kształtujące zmienność genetyczną kompleksu dębowego w rezerwacie „Bielinek” nad Odrą**”.

### **1. Podstawa prawna oraz ocena formalna**

Recenzję wykonałem na wniosek Rady Dziedziny Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego (UKW) w Bydgoszczy. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr. Katarzyny Mayzy została wykonana pod opieką Promotora prof. UKW dr hab. Igora Chybickiego z Katedry Genetyki na Wydziale Nauk Biologicznych UKW. Rozprawa ma charakter niepublikowanego maszynopisu liczącego łącznie 199 stron, wliczając w to stronę tytułową oraz streszczenia pracy w języku polskim i angielskim zamieszczone na końcu oprawionego maszynopisu. Sam jego układ jest typowy dla prac z zakresu nauk przyrodniczych, a zawarte w nim treści zostały ujęte w 9 rozdziałach zawierających Wstęp, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusje, Podsumowanie i wnioski, Aneks, Podziękowania, Literaturę oraz Streszczenia. Stwierdzam, że forma i sposób przedstawienia rozprawy doktorskiej Pani mgr. Katarzyny Mayzy spełnia warunki formalne.

### **2. Ocena rozprawy pod względem podjętego tematu badawczego**

Przedstawiona praca dotyczy analiz procesów kształtujących zmienność genetyczną w populacji trzech gatunków dębów stanowiących kluczowy komponent współtworzonych przez nie ekosystemów leśnych. Ze względu na duże znaczenie gatunków drzew lasotwórczych z rodzaju *Quercus* oraz szereg cech charakterystycznych wynikających z historii ich życia i ekologii takich jak np. ich duża płodność, wiatropylność oraz długowieczność, są one cennym obiektem w badaniach procesów demograficznych, związanych min. z dynamiką polodowcowej historii populacji i ewolucyjnych, związanych z dostosowaniem drzew leśnych do zmieniających się warunków środowiska. Zagadnienia związane z historią populacji, wewnątrz- i międzygatunkowym przepływem genów, czy też procesami selekcji populacji marginalnych, często izolowanych przestrzennie i występujących na dalekim skraju naturalnego występowania gatunków są ciągle słabo poznane. Populacje tego typu stanowią często obszary chronione w ramach parków i rezerwatów przyrody, a poznanie procesów związanych z kształtowaniem przestrzennej struktury genetycznej oraz utrzymywaniem ich zmienności genetycznej jest istotne dla ochrony istniejących zasobów genowych. Tego typu szczegółowe badania z zakresu genetyki populacyjnej prezentowane w recenzowanej pracy mają nie tylko istotne znaczenie poznawcze w obszarze badań podstawowych, ale zyskują na znaczeniu w obliczu postępujących zmian klimatycznych i środowiskowych, adresując szereg pytań o znaczeniu praktycznym, odnoszących się min. do oceny kondycji istniejących populacji drzew leśnych i ich zdolności adaptacyjnych. Mimo, że sam temat badawczy nie jest nowy, o czym świadczą liczne cytowania prac innych autorów dotyczące analiz zmienności genetycznej i struktury populacji wielu gatunków dębów w Europie i na innych kontynentach, to sposób

podejścia do postawionego problemu badawczego, dobór metod analitycznych i wnikliwość w interpretacji uzyskanych wyników zasługują na uznanie.

### 3. Ocena merytoryczna

Prezentowane badania przeprowadzono w dębowym drzewostanie mieszanym w rezerwacie „Bielinek” w dolinie Odry, w którym występują dwa rodzime gatunki dębów tj. dąb szypułkowy (*Quercus robur*) i dąb bezszypułkowy (*Q. petraea*), a także dąb omszony (*Q. pubescens* Wild.), dla którego badana populacja jest uznawana za naturalną i stanowi jego najbardziej na północ wysunięte stanowisko z dala od głównego zasięgu gatunku. W badaniach wykorzystano dane na temat zmienności rejonów mikrosatelitarnych DNA dla 15 loci genu plastydowego i 12 loci genu jądrowego, określonej w grupie 492 drzew oraz 363 siewek zebranych na stanowisku badawczym, a także w grupie 122 drzew dwóch rodzimych gatunków dębów z nadleśnictw na terenie RDLP Szczecin wykorzystanych jako próba referencyjna w badaniach przynależności gatunkowej drzew. Zastosowane markery genetyczne stanowią użyteczne narzędzie molekularne do realizacji postawionych celów badawczych. Dane genetyczne zostały pozyskane w ramach projektu NCN, kierowanego przez Promotora rozprawy doktorskiej oraz wcześniejszych badań prowadzonych w Katedrze Genetyki UKW (w odniesieniu do populacji referencyjnych), a prezentowane wyniki stanowią nowe wątki badawcze nie podejmowane we wcześniejszych pracach będących wynikiem realizacji wspomnianego projektu. W szczególności przedstawione badania dotyczą analiz przestrzennej struktury genetycznej populacji, pochodzenia populacji, wewnątrz- i międzygatunkowego systemu kojarzenia, efektywnego rozprzestrzeniania się genów oraz sukcesu reprodukcyjnego badanych gatunków. Wstęp pracy liczący 22 strony maszynopisu jest bardzo wartościowym i szczegółowym opracowaniem przeglądu literatury i świadczy o dobrym zrozumieniu przez Autorkę prezentowanych zagadnień. W pracy jasno sformułowano w punktach cele prowadzonych badań, choć dobrym rozwinięciem tej części pracy byłoby przedstawienie krótkiego uzasadnienia i przesłanek dla każdej z testowanych hipotez badawczych.

Na wyróżnienie zasługuje szczegółowy opis metodyki oraz wnikliwe przedstawienie stosowanych metod badawczych (25 stron maszynopisu), świadczące o dobrym opanowaniu przez Autorkę analiz danych genetycznych i interpretacji wyników. Część laboratoryjna została opisana w sposób pozwalający na powtórzenie schematu badań, a wybór i wykorzystanie szeregu podejść analitycznych i programów komputerowych, które posłużyły do szczegółowej analizy danych genetycznych został dobrze uzasadniony. Część opisu metodycznego została uzupełniona schematem przeprowadzonych badań w zakresie analiz rodzicielstwa. Z opisu stanowiska wynika, że na terenie rezerwatu Bielinek występuje około 2200 drzew dębów omszonych, z których większość (typowo dla gatunku) charakteryzuje się niewielkimi rozmiarów pierśnicą i wysokością poniżej 20m. W opisie stanowisk zabrakło mi informacji na temat szacowanej struktury wiekowej badanej populacji dębu omszonego oraz pozostałych gatunków, a w dyskusji odniesienia na ile struktura wiekowa może mieć znaczenie dla ich sukcesu reprodukcyjnego, biorąc pod uwagę wpływ wieku na czas owocowania dębów? W tym aspekcie, czy drzewa o największym sukcesie reprodukcyjnym (252 i 291) wyróżniały się na tle innych drzew w badanym drzewostanie? Nie znalazłem również informacji w jakim wieku były analizowane siewki pokolenia F1?

Najbardziej obszerną część pracy stanowi kolejny rozdział opisujący wyniki badań przedstawione na 67 stronach maszynopisu. Ich uzupełnieniem jest dziesięciostronicowy aneks, w którym przedstawiono również zastosowane metody laboratoryjne. Wyniki badań zostały przedstawione w sposób czytelny, stanowiąc systematyczne nawiązanie do zastosowanych podejść badawczych i metod analitycznych. Zostały one opatrzone 39 tabelami i 40 rycinami,

które dobrze podsumowują wyniki analiz genetycznych. Jakość i sposób ich prezentowania nie budzi moich zastrzeżeń poza doбором kolorów na niektórych rycinach (w dużej mierze odcienie niebieskiego), które w pewnych przypadkach np. Rycina 3.16 stały się trudne do odczytania.

Wykonane analizy i uzyskane wyniki badań dotyczące struktury populacji i systemu kojarzenia są kompletne i jednoznacznie definiują zjawiska związane z wewnątrz- i międzygatunkowym przepływem genów w badanej populacji. Niemniej nie rozstrzygają wątpliwości związanych z jej pochodzeniem. Bez wątpienia cennym uzupełnieniem badań byłoby włączenie do analiz *cpDNA* choćby niewielkiej próby z innej populacji *Q. pubescens*, w tym populacji Jena w Niemczech, stanowiącej najbliższy kompleks tego gatunku względem populacji z Bielinka i/lub określenie genotypu prób z użyciem wcześniej stosowanych markerów PCR-RFLP. Pozwoliłoby to na niesienie populacji z Bielinka na mapę filogeograficzną dębów w Europie, potencjalnie rozstrzygając kwestie jej pochodzenia. W pracy zabrakło mi również bardziej szczegółowego odniesienia do wyników badań zamieszczonych w publikacji Chmielewski i in. 2015, dotyczącej analiz filogeograficznych populacji dębów w Polsce z użyciem markerów SSR i odpowiedzi na pytanie, czy zidentyfikowane haplotypy w Bielinku wpisują się we wzór zmienności obserwowany w refugiach glacialnych, w którejś z trzech obecnych w Polsce linii filogeograficznych (bałkańskiej, apenińskiej, iberyjskiej) tych gatunków? Wydaje się również, że próby z Bielinka pod względem liczby haplotypów stanowią skąpą frakcję zmienności opisaną dla rodzimych gatunków dębów w Polsce i jeśli tak, to jakie mogą być tego przyczyny?

Co zrozumiałe ze względu na zasadniczo neutralny charakter zastosowanych markerów mikrosatelitarnych *nDNA*, w pracy poświęcono stosunkowo niewiele uwagi zagadnieniom procesów selekcji i adaptacji populacji mających znaczenie w ich dostosowaniu do zmiennych warunków środowiska. Niemniej zabrakło mi bardziej szczegółowej analizy potencjalnego wpływu doboru na zmienność dwóch loci jądrowego DNA (*Zag65* i *Zag102*), których wzór zmienności odbiegał od modelu ewolucji neutralnej. W szczególności, czy loci te znajdują się w bliskim sąsiedztwie genów (jakich?) oraz czy poziom korelacji miejsc polimorficznych (sprzężenia genetycznego) u badanych gatunków dębów może potencjalnie wspierać wniosek o wpływie doboru naturalnego na zmienność genetyczną tych rejonów?

Dyskusja została zawarta na 34 stronach maszynopisu i pięciu stronach zawierających podsumowanie i wnioski. W sposób logiczny i wyczerpujący nawiązuje do najważniejszych wyników badań oraz stanowi wnikliwe odniesienie do prac innych badaczy liczących łącznie 355 pozycji spisu literatury. Cała praca została napisana bardzo starannie, a dokumentacja i interpretacja wyników są niezwykle skrupulatne i logiczne. Znalazłem nieliczne i drobne potknięcia językowe w postaci błędów gramatycznych (np. str. 36 werset 7, str. 52 w.25, str. 53 w.15, str. 103 w.7, str. 121 w.22, str. 145 w.21, str. 197 w.24), niezręcznych kalek językowych (np. ekstynkcja – str. 10), a w jednym przypadku błąd odnośnie pisowni nazwy Wysp Brytyjskich (str. 14 vs. 30). Te drobne potknięcia w żaden sposób nie rzutują na niezwykle staranny i syntetyczny sposób przedstawienia całości rozprawy doktorskiej.

#### **4. Podsumowanie**

Rozprawa doktorska Pani mgr. Katarzyny Meyzy stanowi oryginalne i wieloaspektowe studium przypadku, w którym Autorka wykorzystała układ sąsiadujących ze sobą trzech gatunków dębów oraz dane genetyczne do testowania szeregu hipotez badawczych w zakresie min. analiz zmienności i struktury genetycznej populacji oraz systemu kojarzenia i sukcesu reprodukcyjnego badanych gatunków. Wyniki badań wnoszą cenne dane w zakresie genetyki populacyjnej dębów, w szczególności w aspekcie procesów kształtujących ich zmienność

genetyczną. Prezentowane wyniki badań mają nie tylko wartość poznawczą w zakresie nauk podstawowych i biologii gatunków, ale również stanowią punkt wyjścia do aplikacji praktycznych w zakresie gospodarowania zasobami genowymi populacji i przewidywania ich odpowiedzi w obliczu postępujących zmian środowiskowych.

Do najważniejszych osiągnięć i wyników prezentowanej pracy zaliczam:

- wykrycie przestrzennego wzoru grupowania się haplotypów *Q. pubescens*, wskazujące na falowy proces kolonizacji i możliwość spotkania się różnych linii migracyjnych na badanym obszarze
- wykrycie autokorelacji przestrzennej w pokoleniu dębu omszonego i bezszypułkowego
- wykrycie różnic w sukcesie reprodukcyjnym pomiędzy badanymi gatunkami dębów oraz stwierdzenie największej efektywności rozrodczej w tworzeniu pokolenia potomnego u dębu omszonego
- wykrycie wyższej frekwencji zdarzeń dyspersji w najmniejszych klasach dystansu oraz niedobór dalekich zdarzeń dyspersji w badanej populacji
- identyfikację wzorów kojarzenia na poziomie wewnątrz- i międzygatunkowym, w tym identyfikację osobników hybrydowych oraz ustalenie wpływu przynależność gatunkowej odnośnie kierunku i częstości hybrydyzacji w badanej populacji
- wykrycie silnej introgresji z udziałem dębu omszonego

Zakres przeprowadzonych analiz, uzyskane wyniki oraz sposób ich prezentacji wskazują na bardzo dobre opanowanie przez Autorkę warsztatu naukowego w zakresie analiz danych molekularnych w ujęciu genetyki populacyjnej.

## 5. Wniosek końcowy

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pani mgr. Katarzyny Meyzy jest niezwykle wnikliwym i wartościowym rozwiązaniem sformułowanego problemu badawczego, jak również jednoznacznie dokumentuje jej ogólną wiedzę w zakresie przedmiotu i uprawianej dyscypliny naukowej. W prezentowanej pracy potwierdziła swoje wysokie kompetencje i umiejętności dotyczące analiz danych genetycznych, szczegółowej interpretacji wyników oraz ich prezentacji. Jednocześnie stwierdzam, że przedłożona praca spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 13 ustawy z dnia 14.03.2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (T.J. Dz. U. 2017 poz. 1789) oraz art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r (Dz. U. 2018 poz. 1669 ze zm.). Tym samym wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr. Katarzyny Mayzy do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę wartość naukową prezentowanych badań, bardzo solidny warsztat badawczy Pani mgr. Katarzyny Meyzy, rozmach w wykorzystaniu przez nią zaprezentowanych podejść analitycznych, dociekliwość i skrupulatność w analizie uzyskanych danych oraz umiejętność interpretacji i swobodnej prezentacji wyników złożonych danych genetycznych, uważam, że przedłożona praca doktorska zasługuje na wyróżnienie.

Poznań, 7 września 2023 r.

Prof. dr hab. Witold Wachowiak