

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

## Ocena

pracy doktorskiej mgr JOANNY IWONY KOCHAN

pt. "Charakterystyka genetyczna populacji borsuka *Meles meles* (Linnaeus, 1758)  
w wybranych krajach Europy środkowej"

wykonanej pod kierunkiem

dr hab. Wojciecha Kruszyńskiego i dr Tomasza Strzały

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska obejmuje łącznie 63 strony maszynopisu, 8 tabel, 13 rysunków i wykresów, podzielonych na logiczne podrozdziały ułatwiające czytanie i analizę zawartych w pracy wyników. Do pracy dodano 3 załączniki a spis piśmiennictwa obejmuje 111 pozycji literatury, głównie obcojęzycznej, opublikowanych w większości po 2000 roku.

W pierwszym rozdziale *Wstęp* Autorka przedstawia pokrótce gatunek, którym zajmowała się w pracy oraz informacje o wielkości populacji borsuka oraz o czynnikach wpływających na jego zagęszczenie. Autorka stawia pytanie czy przystosowanie do lokalnych warunków i powiązane z nim większe zagęszczenie może mieć wpływ na strukturę genetyczną populacji, i w jakim stopniu dystans geograficzny wpływa na zróżnicowanie tejże struktury. Poddaje również w wątpliwość skuteczność ochrony gatunku poprzez tworzenie rezerwatów, których odizolowanie od siebie skutkuje ograniczeniem przepływu genów. Zwraca również uwagę, że struktura genetyczna badanego gatunku może być konsekwencją również oddziaływań antropogenicznych.

Na końcu rozdziału *Wstęp* Autorka podaje cele swoich badań. W swojej pracy chce ona poznać strukturę genetyczną polskiej populacji borsuka w obrębie mitochondrialnego DNA jak również przy zastosowaniu markerów mikrosatelitarnych. Autorka podaje, że zamierza przeprowadzić również analizę filogenetyczną borsuka z populacji Europy wschodniej.

W kolejnym rozdziale *Materiał i metody* znajdują się informacje o liczbie i o miejscu pozyskania prób do badań. Materiał został zebrany z bardzo dużej liczby lokalizacji, co powoduje, że z jednego miejsca pozyskano średnio próby od 2-3 osobników, praktycznie oprócz Puszczy Białowieskiej reprezentowanej przez 23 osobniki. Wydaje się, że ta

nierównomierna reprezentacja różnych rejonów Polski może mieć wpływ na uzyskane wyniki, a potem wnioski. W dalszej części rozdziału przedstawione są metody izolacji DNA, amplifikacji i oceny polimorfizmu. Szczegółowo omówione są metody statystyczne służące ocenie polimorfizmu i podobieństwa między osobnikami.

Kolejnym rozdziałem w pracy są *Wyniki* podzielone na prezentację oceny mitochondrialnego DNA i zmienności mikrosatelitarnej. Interesujące są wyniki dotyczące zmienności mtDNA, ponieważ dla zbadanych 76 prób z Polski stwierdzono aż siedem haplotypów, z których dwa pojawiły się tylko u jednego osobnika, ale ten wynik świadczy raczej o sporej zmienności w obrębie poszczególnych lokalizacji. Jednak na podstawie wizualizacji wyników przedstawionych na rycinie 5, można zauważyć, o czym wiadomo na podstawie opisu materiału, że tylko pięć lokalizacji w naszym kraju reprezentowanych jest co najmniej kilkoma osobnikami. Można mieć nadzieję, że w przyszłości puste przestrzenie na mapie zostaną uzupełnione, co pozwoli na prawidłowe wyciąganie wniosków, przede wszystkim co do odrębności poszczególnych populacji.

Na początku rozdziału nr 3.2 podana jest informacja o podziale prób zebranych w Polsce na trzy grupy (Białowieża, zachodnia i wschodnia Polska), natomiast w tabeli 2 podano lokalizacje zebranych prób. Autorka nie podała w jaki sposób, i właściwie po co, podzieliła Polskę na dwie części, a nie na trzy czy cztery. Próby pochodzące z województw lubelskiego i warmińsko-mazurskiego są dość liczne i ze względu na dystans geograficzny mogą znacznie różnić się od siebie, zatem ich połączenie jest metodycznym błędem. Traktowana specjalnie Białowieża znajduje się pomiędzy tymi wymienionymi dwoma lokalizacjami, a brakuje całkowicie prób w bliskim sąsiedztwie Puszczy Białowieskiej. Argumentacja przedstawiona w dyskusji, że stwierdzono odrębność genetyczną sosny na terenie Puszczy Białowieskiej nie jest wystarczająca, aby na podstawie uzyskanych wyników taki sam wniosek móc wyciągać o populacji borsuka, gatunku o zdecydowanie większej mobilności od sosny. Uważam, że zebrane próby powinny być podzielone na większą liczbę grup, a na pewno powinno wydzielić się lubelską i „elbląską” na tle innych. Zróżnicowanie w obrębie grupy Polska wschodnia jest widoczne na rycinie 10, gdyż praktycznie dla każdej liczby klastrów widoczny jest podział tej grupy na dwie części. To wewnętrzne zróżnicowanie w grupie Polska wschodnia wpływa na wyniki podziału na klastry oraz na wyodrębnienie populacji borsuka z Białowieży, choć wydaje się, że część grupy Polska wschodnia jest bardzo zbliżona do populacji białowieskiej.

W tabelach 4-6 przedstawiono wyniki zmienności 17 *loci* mikrosatelitarnych w obrębie krajowych i zagranicznych grup. Zwraça uwagę podobny poziom heterozygotyczności i niewielkie wahania w liczbie alleli. W tabeli 7 przedstawiono wielkości dystansu genetycznego między grupami i te wyniki są zastanawiające i ciekawe. Jak można wytłumaczyć stosunkowo większe podobieństwo populacji z zachodniej Polski zarówno z

niemiecką jak i estońską. Czy niska wartość dystansu między wschodnią i zachodnią Polską nie jest wynikiem opisywanego wyżej zróżnicowania w obrębie wschodniej grupy?

Na rycinie 6 przedstawiono regresję obrazującą izolację przez dystans, w której jako zmienną niezależną wykorzystano logarytm odległości między populacjami. Nie podano w jaki sposób określano odległość pomiędzy poszczególnymi grupami, jeśli większość grup to próby zebrane ze znacznego obszaru kraju (np. grupa Polska wschodnia). Wydaje się, że taka analiza relacji dystansu genetycznego i geograficznego w przypadku tej pracy nie ma racji bytu, ponieważ obarczona jest błędem metodycznym określania odległości. Dodatkowo funkcja regresji jest nieistotna, a jej współczynnik determinacji tak niewielki, że nie powinna być ona uwzględniana jako element analizy. Znacznie większy sens ma ocena przedstawiona na rycinie 7, w której oceniano odległość między parami osobników w powiązaniu z dystansem genetycznym. W tym przypadku regresja była istotna, choć nie jest do końca jasne jaka funkcja została w tym przypadku użyta, a na rycinie 7 zastanawia zbyt mała liczba różnych wartości argumentu, tzn. dystansów między parami osobników.

W dalszej części rozdziału *Wyniki* przedstawiona jest interesująca i dobrze wyjaśniona kwestia podziału analizowanych osobników borsuka na klastry. Autorka wykorzystала dwa różne programy służące do analizy ocenionych prób. Uzyskane wyniki są bardzo interesujące, choć, jak wspomniałam wcześniej, odrębność populacji z Puszczy Białowieskiej może być konsekwencją zarówno doboru jak i podziału analizowanego materiału.

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 zagadnie poruszone jest na końcu rozdziału *Dyskusja*, a mianowicie niższa zmienność genetyczna w populacji miejskiej w stosunku do pozamiejskiej, przy czym przykłady dotyczą różnych gatunków. Jako wyjaśnienie różnic podawany jest dryf genetyczny jako efekt izolacji. Wydaje się interesujące zbadanie podobieństwa genetycznego w obrębie każdej populacji, gdyż w warunkach korzystniejszych powinno być ono wyższe z powodów demograficznych, co może skutkować niższą zmiennością w jej obrębie.

Praca kończy się rozdziałem zatytułowanym *Wnioski*, zawierającym 5 stwierdzeń podsumowujących przeprowadzone badania. Wydaje się, że niektóre z wniosków są konsekwencją dobranego materiału i powinny być formułowane ostrożniej, o czym zasygnalizowano wcześniej.

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. Zdecydowanie warto byłoby uzupełnić badania o próby z innych populacji krajowych, szczególnie ze wschodniej Polski, aby zweryfikować sugerowaną odrębność genetyczną populacji białowieskiej.

Praca jest starannie przygotowana, wykresy i ryciny są czytelne i oddają prawidłowo prezentowane wyniki. Nieliczne błędy literowe i interpunkcyjne nie mają wpływu na wartość pracy, ale warto je usunąć przygotowując pracę do druku. Praca nie jest zbyt obszerna, co jest jej dużą zaletą. A co ważne, informacje podawane są konkretnie i w celowy sposób. Z obowiązku recenzenta wynikało wskazanie nielicznych uchybień ocenianej dysertacji, aby możliwe było udoskonalenie publikacji i dalszych badań.

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 bardzo dobre prezentowanie własnych wyników na tle licznych cytowanych badań.

Jestem przekonana, że praca doktorska mgr Joanny Iwony Kochan 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 Joanny Iwony Kochan do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Warszawa 19 maja 2014 r.

dr hab. Wanda Olech-Piasecka