

Białowieża, 23.05.2017

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marty Heleny Czernik pt.
„Analiza molekularna zimowej diety łośia, jelenia szlachetnego i sarny
europejskiej w Polsce”**

Uwagi formalne

Rozprawa doktorska Pani mgr Marty Heleny Czernik pt. „Analiza molekularna zimowej diety łośia, jelenia szlachetnego i sarny europejskiej w Polsce” została wykonana w Instytucie Biologii, Wydział Biologiczno-Chemiczny Uniwersytetu w Białymstoku, pod opieką promotorską Pana prof. dr hab. Mirosława Ratkiewicza.

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie maszynopisu o łącznej objętości 127 numerowanych stron, w tym: Wstęp zajmuje 11 stron, Materiał i metody - 17 stron, Wyniki - 14 stron, Dyskusja - 27 stron, Literatura - 13 stron (193 pozycje), Tabele – 19 stron, Ryciny – 10 stron oraz Supplement - 3 strony. Rozprawa jest opatrzona streszczeniem w języku polskim i angielskim.

Uwagi ogólne

Tematem rozprawy doktorskiej jest charakterystyka zimowej diety łośia (*Alces alces*), jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*) i sarny europejskiej (*Capreolus capreolus*) z wykorzystaniem metod genetycznych. Należy podkreślić to, że Doktorantka zastosowała nowatorską metodę genetycznej analizy jakościowej gatunków/grup roślin w diecie badanych roślinożerców. Analizowała także skład diety wykorzystując dane uzyskane metodą DNA metabarcodingu przy użyciu sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Metodę tą z pewnymi zastrzeżeniami można uznać za metodę ilościową, gdyż różni badacze wskazują, że liczba odczytów sekwencji danej rośliny w analizowanej próbce odchodów jest pozytywnie skorelowana z udziałem tej rośliny w masie zjedanego pokarmu przez roślinożercę. Materiał do badań opisanych w tej rozprawie stanowiły próby odchodów łośi, jeleni i saren zebrane w czasie zim

w latach 2007-2014. Przynależność odchodów do trzech badanych gatunków roślinożerców była weryfikowana przy użyciu metody genetycznej (fragment sekwencji cytochromu *b* mtDNA, lub fragment sekwencji regionu kontrolnego mtDNA). Doktorantka analizowała łącznie 471 prób skupiając się na trzech aspektach wykorzystania bazy żerowej przez badanych roślinożerców: w zależności od obszaru ich występowania, zmienności diety w obrębie jednego sezonu w ciągu kilku lat oraz w obecności potencjalnych konkurentów.

Rozprawa doktorska mgr Marty Czernik miała trzy podstawowe cele badawcze:

- (i) oszacowanie i porównanie składu zimowej diety łośi, jeleni i saren w dolnym basenie doliny Biebrzy. Doktorantka założyła, że uzyskane wyniki pozwolą zweryfikować hipotezę o wysokim podobieństwie diety łośi i saren, jako typowych pędożerców oraz oszacować stopień pokrywania się nisz pokarmowych badanych jeleniowatych;
- (ii) porównanie zimowej diety łośi w głównych ostojach tego gatunku w Polsce (w dolinie Biebrzy, w Kampinoskim Parku Narodowym i Poleskim Parku Narodowym) oraz oszacowanie plastyczności pokarmowej tego gatunku;
- (iii) zidentyfikowanie oraz porównanie składu diety łośi w dolnym basenie doliny Biebrzy w trzech sezonach zimowych (2011–2014) oraz oszacowanie i porównanie szerokości nisz pokarmowych tego gatunku w trzech sezonach zimowych.

W swoich badaniach Doktorantka wykorzystwała szeroki wachlarz analiz statystycznych. Obliczała szerokości nisz pokarmowych badanych roślinożerców wykorzystując różne metody. Ponadto stosowała ogólny model liniowy (GLM) do oceny zmienności szerokości nisz pokarmowych oraz analizę składowych głównych (PCA) i analizę wariancji (ANOVA) do oceny zmienności i różnic w diecie łośi, saren i jeleni.

Najważniejsze wyniki

Należy podkreślić, że Doktorantka przeprowadziła trudne wieloaspektowe badania i uzyskała interesujące wyniki. Wyniki rozprawy zostały podzielone na trzy części (podrozdziały), zgodnie z założonymi celami badań.

W pierwszej części Doktorantka wykazała, że w dolnym basenie doliny Biebrzy zimowa dieta łośi, jeleni i saren była podobna, a w jej skład wchodziło przynajmniej 9 wspólnych ważnych zasobów. Spośród zjadanych roślin sosna była gatunkiem preferowanym, o dużym udziale w diecie wszystkich badanych roślinożerców. Doktorantka porównała wyniki uzyskane przy

użyciu metody jakościowej i ilościowej (NGS) stwierdzając, że one istotnie ze sobą korelują, co wskazuje na ich wiarygodność oraz wzajemne uzupełnianie się. Uzyskane wyniki dowiodły, że zachodzi duże pokrywanie się nisz pokarmowych łosi, jeleni i saren w dolnym basenie doliny Biebrzy. Jednakże odmienne proporcje drzew i krzewów do ziół i traw w ich diecie oraz duża liczba gatunków, które istotnie je rozróżniają, świadczą o tym, że nisze pokarmowe tych roślinożerców w pewnym zakresie się rozchodzą. Doktorantka uznała, że jest to najprawdopodobniej efekt unikania konkurencji pokarmowej u roślinożerców poprzez wykorzystywanie różnych zasobów środowiska. Stwierdziła również, że uzyskane wyniki pozwalają potwierdzić hipotezę, że jelen jest gatunkiem o dużej plastyczności pokarmowej, który może upodabniać swoją niszę pokarmową do niszy sarny.

W drugiej części Doktorantka scharakteryzowała i porównała skład diety łosi w okresie zimy w dolinie Biebrzy, Kampinoskim Parku Narodowym oraz Poleskim Parku Narodowym. Wykazała duże podobieństwo diety tych roślinożerców na badanych terenach. Najbardziej podobny skład roślin w diecie łosi wykazała analiza prób odchodów z doliny Biebrzy i Poleskiego Parku Narodowego. Doktorantka stwierdziła, że skład zimowej diety łosi w poszczególnych ostojach tego gatunku w Polsce w dużej mierze zależy od składu i zasobności dostępnej na danym terenie bazy żerowej. Łoś bazuje na pewnej, stałej grupie gatunków roślin. Ponadto roślinożerca ten potrafi dostosować skład swojej diety do zasobności poszczególnych roślin w danym środowisku. Wskazuje to na dużą plastyczność pokarmową tego gatunku.

W trzeciej części przedstawione zostały wyniki analizy zmienności zimowej diety łosi w dolnym basenie doliny Biebrzy w latach 2011–2014. Wyniki te pokazały, że w tym samym środowisku i przy podobnym zagęszczeniu populacji skład pokarmu tych roślinożerców może się różnić. W trakcie zim o wyższej i dłuższej zalegającej pokrywie śnieżnej żerowanie łosi na roślinach runa było ograniczone, co powodowało większą presję tych roślinożerców na drzewostany. Dlatego Doktorantka stwierdziła, że pokrywa śnieżna jest istotnym czynnikiem wpływającym na skład zimowej diety łosi w dolinie Biebrzy.

Warto zaznaczyć, że wyniki tej pracy doktorskiej oprócz aspektów naukowych mają także wymiar praktyczny. Okazało się, że stopień uszkodzenia drzewostanów w dolinie Biebrzy przez łosie, jelenie i sarny może być ograniczony jeśli zimowe trzebieże w drzewostanach sosnowych są prowadzone w odpowiedniej skali. W dyskusji Doktorantka przedstawiła odpowiednie rekomendacje dla gospodarki leśnej. Ogólnie zgadzam się z wnioskami, jakie

zostały sformułowane na końcu rozprawy doktorskiej, jednak mam pewne uwagi krytyczne, które zamieściłem poniżej.

Uwagi krytyczne

Słabym punktem tej rozprawy doktorskiej jest analiza ilościowa z wykorzystaniem metody DNA metabarcodingu i sekwencjonowania NGS. Po pierwsze, w rozprawie nie jest jasno napisane ile prób analizowano przy pomocy tej metody, można jedynie przypuszczać, że analizowane były wszystkie próby odchodów łośi, jeleni i saren zebrane w czasie zim 2011-2014 w dolnym basenie doliny Biebrzy. Po drugie, Doktorantka nie zaprezentowała podstawowych wyników uzyskanych przy pomocy tej metody. W Tabeli 4 przedstawione są jedynie wartości procentowe odczytów sekwencji danego gatunku/grupy roślin. Uważam, że należało także podać liczbę analizowanych prób odchodów i liczby uzyskanych odczytów (np. minimum – maksimum, średnia/próbkę) dla poszczególnych roślin, jeśli nie w rozdziale „Wyniki” to przynajmniej w materiałach uzupełniających. Dopiero z dyskusji dowiadujemy się, że analiza ilościowa przeprowadzona została na wstępnych odczytach sekwencji, dysponując od kilkudziesięciu do kilkuset odczytów na próbkę. Zatem, wyniki analizy jakościowej należy traktować jako pilotowe, a wnioski formułować bardzo ostrożnie. W takim zakresie, jak zostały przedstawione w rozprawie, wyniki te nie nadają się do publikacji.

Innym słabym punktem są hipotezy badawcze. Moim zdaniem nie zostały one jasno przedstawione w rozprawie, pomimo, że cele badań zostały szczegółowo opisane. Przed publikacją wyników rozprawy w czasopiśmie naukowym należy zwrócić baczniejszą uwagę na ten aspekt.

Mam również mniej ważną uwagę edytorską. Rozdział „Wyniki” rozpoczyna się od uwag dotyczących możliwości i ograniczeń przyjętej w rozprawie metody badawczej. Jest to istotne zagadnienie i dobrze, że Doktorantka wyjaśniła tę kwestię szczegółowo, ale moim zdaniem ten fragment powinien znaleźć się w rozdziale opisującym metody badawcze lub na początku dyskusji.

Podsumowanie

Pomimo wskazanych kilku słabych punktów ta rozprawa doktorska zasługuje na wysoką ocenę, ze względu na jej nowatorskość i wartościowe wyniki naukowe. Trzeba docenić Doktorantkę za to, że podjęła się realizacji trudnego tematu badawczego i dobrze poradziła sobie z tym zadaniem. Doktoranta dobrze opanowała warsztat badawczy, zarówno techniki laboratoryjne jak i nowoczesne metody analizy danych genetycznych. Wykazała się również dobrą znajomością analizy danych z zastosowaniem metod statystycznych. Nie podlega dyskusji, że przedstawiona rozprawa doktorska istotnie poszerza

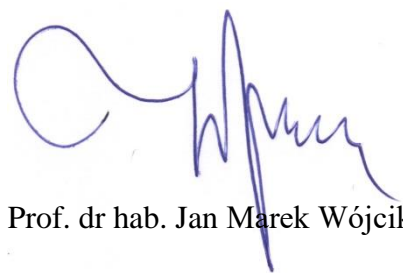
naszą wiedzę na temat zimowej diety łośi, jeleni i saren. W obszernej dyskusji Doktoranta zaprezentowała dobrą znajomość zagadnień z zakresu biologii i ekologii badanych roślinożerców i umiejętnie pokazała uzyskane wyniki w świetle dostępnej wiedzy.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Czernik stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie biologii i umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Wniosek końcowy

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Marty Heleny Czernik pt. „Analiza molekularna zimowej diety łośia, jelenia szlachetnego i sarny europejskiej w Polsce” spełnia warunki określone w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2003 r. nr 65, poz. 595; z późn. zm.) oraz w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 26 września 2016 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora* (Dz. U. 2016, poz. 1586).

Zwracam się zatem do Rady Naukowej Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pani mgr Marty Heleny Czernik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Jan Marek Wójcik