

Prof. dr hab. Jan M. Wójcik
Instytut Biologii Ssaków PAN
w Białowieży
e-mail: jwojcik@ibs.bialowieza.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Macieja Matosiuka
pt. „Hybridization and gene introgression between European and Siberian roe deer”
(“Hybrydyzacja i introgresja genów między sarną europejską a sarną syberyjską”)

Rozprawa doktorska Pana mgr. Macieja Matosiuka pt. „Hybridization and gene introgression between European and Siberian roe deer” (“Hybrydyzacja i introgresja genów między sarną europejską a sarną syberyjską”) została wykonana w Instytucie Biologii, Wydział Biologiczno-Chemiczny Uniwersytetu w Białymstoku, pod opieką promotorską Pani dr hab. Anetty Borkowskiej.

Rozprawa doktorska, o objętości 58 stron, została przygotowana w języku angielskim i składa się z dwóch opublikowanych współautorskich artykułów naukowych z materiałami uzupełniającymi:

- (1) Matosiuk M, Borkowska A, Świsłocka M, Mirski P, Borowski Z, Krysiuk K, Danilkin AA, Zvychaynaya EY, Saveljev AP, Ratkiewicz M. 2014. Unexpected population genetic structure of European roe deer in Poland: an invasion of the mtDNA genome from Siberian roe deer. *Molecular Ecology* 23: 2559–2572;
- (2) Matosiuk M, Sheremetyva IN, Sheremetyev IS, Saveljev AP, Borkowska A. 2014. Evolutionary neutrality of mtDNA introgression: evidence from complete mitogenome analysis in roe deer. *Journal of Evolutionary Biology* 27: 2483–2494.

Obydwa artykuły naukowe uzupełniają się tematycznie, co sprawia, że całość rozprawy doktorskiej stanowi spójne opracowanie. Doktorant jest pierwszym autorem obu artykułów, a jego sumaryczny udział w przeprowadzeniu eksperymentów, opracowaniu wyników i przygotowaniu maszynopisów

był dominujący: 60% w artykule pierwszym oraz 80% w artykule drugim (do rozprawy dołączono 13 oświadczeń współautorów o ich wkładzie pracy w powstanie artykułów). Rozprawa doktorska jest opatrzona streszczeniem w języku angielskim i polskim.

Artykuły zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych o wysokim wskaźniku *impact factor* IF (*Molecular Ecology* – IF = 5,947; *Journal of Evolutionary Biology* – IF = 2,747). Maszynopisy artykułów musiały być ocenione przez specjalistów recenzentów, a ich uwagi zapewne zostały uwzględnione w wersjach zaakceptowanych do druku. Dostrzegam to i muszę stwierdzić, że rozprawa doktorska mgr. Matosiuka cechuje się zarówno wysoką jakością merytoryczną jak i bardzo solidnym opracowaniem edytorskim.

W pierwszym artykule rozprawy (Chapter I) Doktorant zaprezentował wyniki analiz zmienności sekwencji markerów mitochondrialnego DNA (region kontrolny, cytochrom *b*) oraz markerów związanych z chromosomami płci (SRY, ZFX, DBY4, DBY8) u 452 osobników saren europejskich pochodzących z 21 populacji z obszaru Polski oraz u 16 osobników sarny syberyjskiej.

Badania te pozwoliły wyróżnić dwie wyraźnie odrębne linie ewolucyjne sekwencji regionu kontrolnego mtDNA odpowiadające gatunkom, dlatego Doktorant stwierdził, że takiej zmienności nie można tłumaczyć niekompletnym sortowaniem linii filogenetycznych. Moim zdaniem Doktorant słusznie przyjął takie założenie.

Najważniejszym wynikiem było wykrycie obecności mtDNA sarny syberyjskiej u osobników sarny europejskiej na terenie Polski. Doktorant stwierdził, że osobniki hybrydowe są powszechne w populacjach sarny we wschodniej oraz południowo-wschodniej części kraju. Ponadto Doktorant opisał filogenetycznie odrębną grupę haplotypów mtDNA sarny syberyjskiej, które występowały u hybrydów z terenu Polski, a nie były stwierdzone dotąd w naturalnym zasięgu sarny syberyjskiej.

Doktorant przedstawił prawdopodobny scenariusz powstania kontaktu zasięgów pomiędzy badanymi gatunkami saren po ustąpieniu ostatniego zlodowacenia oraz stwierdził, że introgresja mtDNA prawdopodobnie zachodziła w sytuacji silnej asymetrii demograficznej pomiędzy sarną europejską (gatunkiem w ekspansji) a sarną syberyjską. Doktorant postawił hipotezę, że mtDNA sarny syberyjskiej mógł rozprzestrzeniać się na czole fali ekspansji w populacji sarny europejskiej wskutek tzw. surfingu genetycznego, co doprowadziło do szeroko rozprzestrzenionej introgresji mtDNA, ale nie markerów jądrowych. Moim zdaniem,

wnioskowanie to wydaje się być uzasadnione w świetle dostępnej wiedzy. Również ważnym wynikiem było stwierdzenie, że czynniki klimatyczne w okresie zimy mogą mieć wpływ na utrzymywanie się wariantów mtDNA sarny syberyjskiej w populacjach sarny europejskiej w Polsce, co mogłoby sugerować, iż są one faworyzowane przez dobór naturalny.

W drugim artykule rozprawy (Chapter II) Doktorant przedstawił wyniki analizy porównawczej 16 kompletnych sekwencji genomów mitochondrialnych należących do sarny europejskiej i syberyjskiej oraz osobników mieszańcowych sarny europejskiej, posiadających mtDNA sarny syberyjskiej. Doktorant wykonał szczegółową analizę filogenetyczną oraz testował czy linie mitochondrialnego DNA w rodzaju *Capreolus* ewoluowały zgodnie z założeniami modelu neutralnego czy pod wpływem doboru naturalnego.

Doktorant wykazał, że linie mtDNA sarny europejskiej i syberyjskiej różnią się na poziomie 2,8% dywergencji sekwencji oraz, że jedynie 21 utrwalonych mutacji reprezentuje niesynonimiczne substytucje. Ważnym odkryciem było wykazanie, że aż 17 tych niesynonimicznych substytucji utrwalilo się w linii sarny europejskiej od czasu ostatniego wspólnego przodka. Zatem, można było przyjąć, że warianty protein kodowanych przez mitogenom sarny syberyjskiej tylko nieznacznie różnią się od ancestralnego typu mtDNA w rodzaju *Capreolus*. Ponadto Doktorant stwierdził, że tempo ewolucji sekwencji mitogenomów w linii sarny europejskiej jest blisko cztery razy wyższe niż w linii sarny syberyjskiej, a dobór oczyszczający przeciwdziała utrwaleniu niekorzystnych mutacji. Z badań Doktoranta wynika, że wysoce zmienna linia sarny europejskiej jest podatna na introgresję mało zmiennego mtDNA sarny syberyjskiej. Brak istotnych dowodów na pozytywną selekcję na poziomie kodonów wskazuje, że introgresja mtDNA sarny syberyjskiej do genomu sarny europejskiej jest neutralna ewolucyjnie. Jest to istotne stwierdzenie z punktu widzenia badań ewolucyjnych nad blisko spokrewnionymi gatunkami ssaków.

Uważam, że osiągnięcie naukowe tej rozprawy doktorskiej zasługuje na wysoką ocenę. Wszystkie analizy zostały wykonane prawidłowo, a wnioski nie budzą wątpliwości. Jednak mam kilka krytycznych uwag.

Moim zdaniem opis wyników analizy sekwencji markerów związanych z chromosomami płci w artykule pierwszym jest zbyt skąpy. Również odniesienia w dyskusji do tego zagadnienia są zdawkowe. Można było zamieścić więcej informacji na ten temat, jeśli nie bezpośrednio w opublikowanym artykule to w materiałach uzupełniających. Na przykład można było wskazać na konkretne różnice w sekwencjach markerów (allele, haplotypy) u sarny europejskiej i

syberyjskiej. Odwoływanie się do sekwencji zdeponowanych w GenBanku jest powszechnie akceptowane, ale to utrudnia czytelnikowi rozprawy poznanie szczegółowych wyników analizy sekwencji markerów związanych z chromosomami płci.

W streszczeniu Doktorant zamieścił następującą konkluzję: „Brak śladów introgresji markerów jądrowych związanych z chromosomami płci oraz *loci* RAD (dane niepublikowane) wskazuje na asymetryczną introgresję, której przyczyny mogą leżeć w zróżnicowanej demografii podczas postglacjalnej historii rodzaju *Capreolus* lub/i niezgodności w mocno zróżnicowanych genomach gatunków saren (model Dobzhansky’ego-Mullera)”. Jednakże w rozprawie nie znalazłem bardziej szczegółowego odniesienia do problemu niezgodności w genomach badanych gatunków saren oraz propozycji wyjaśnienia w jaki sposób model Dobzhansky’ego-Mullera mógłby tłumaczyć asymetryczną introgresję stwierdzoną w tych badaniach. Chciałbym, aby Doktorant przedstawił więcej informacji na ten temat.

Modelowanie nisz ekologicznych sarny europejskiej i syberyjskiej jest bardzo interesującą częścią rozprawy i oceniam ją wysoko, ale ryciny prezentujące wyniki tej analizy są bardzo słabej jakości. Zapewne Doktorant miał ograniczony wpływ na sposób zamieszczenia Fig. 4 w artykule w *Molecular Ecology*, ale w materiałach uzupełniających, na str. 33 rozprawy, można było zamieścić rycinę lepszej jakości, w większym rozmiarze i oddzielnie dla sarny europejskiej i syberyjskiej. W obecnym kształcie ta rycina jest mało czytelna.

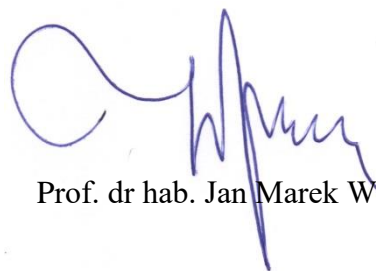
Podsumowując, podkreślam, że pomimo moich krytycznych uwag rozprawa doktorska Pana mgr. Macieja Matosiuka zasługuje na wysoką ocenę, ze względu na jej nowatorskość i znaczącą wartość naukową. Doktorant wykazał się ogólną wiedzą teoretyczną z zakresu biologii oraz potwierdził umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. W dyskusji w obu artykułach Doktorant zaprezentował dobrą znajomość zagadnień z zakresu biologii ewolucyjnej. Doktorant dobrze opanował warsztat badawczy, zarówno techniki laboratoryjne jak i nowoczesne metody analizy danych genetycznych. Wykazał się dobrą znajomością analizy danych z zastosowaniem metod Bayesowskich i modelowania nisz ekologicznych. Uzyskane wyniki Doktorant umiejętnie pokazał w świetle dostępnej wiedzy. O zainteresowaniu wynikami badań zaprezentowanych w tej rozprawie doktorskiej świadczy fakt, że już pojawiły się cytacje obu artykułów w innych publikacjach (artykuł pierwszy – 8 cytacji; artykuł drugi – 3 cytacje).

Wniosek końcowy

Konkludując, stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr. Macieja Matosiuka pt. „Hybridization and gene introgression between European and Siberian roe deer” 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; ze zm. w Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455) oraz w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora* (Dz. U. z 2011 r. nr 204, poz. 1200).

Stwierdzam również, że ta rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego z zakresu biologii ewolucyjnej oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w zakresie biologii i umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Zwracam się zatem do Rady Naukowej Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pana mgr. Macieja Matosiuka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Jan Marek Wójcik