

Profesor zwyczaj. dr. habil. Tomasz J. Wodzicki, czł. Intern. Academy of Wood Sci.,  
Hon. Przewodniczący Komitetu Botaniki PAN, czł. rzecz. Warszawskiego. Tow. Naukowego.

Warszawa 2 stycznia, 2013r.

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Elżbiety Chomicz, p.t. „Zmienność genetyczna odnowień naturalnych świerka ( *Picea abies* (L.) Karst.) w zamierających drzewostanach Beskidu Śląskiego i Żywieckiego. Wykonana na zlecenie Rady Naukowej Instytutu Badawczego Leśnictwa, Sękocin Stary.

Rozprawa doktorska Pani mgr Elżbiety Chomicz dotyczy niewyjaśnionego dotąd problemu zachowania biologicznej różnorodności populacji genetycznej, w pierwszej populacji potomstwa, określonej terminem odnowień naturalnych ważnego gatunku drzewostanów leśnych w Polsce jakim jest świerk pospolity ( *Picea abies* (L.) Karst). Pierwsza hipoteza robocza sformułowana przez Autorkę zakłada, że *zmienność genetyczna w obu populacjach, rodzicielskiej i potomnej, wybranych drzewostanów w Beskidzie Śląskim i Beskidzie Żywieckim, jest podobna*. Wyróżnikiem tych drzewostanów jest pochodzenie wiązane z materiałem nasiennym populacji drzew pomnikowych z rezerwatu „Bukowiec” w okolicy Istebnej, a więc, populacją, której leśnicy przypisują szczególną wartość hodowlaną. Druga ( ale wcale nie mniej ważna ) hipoteza zakłada, że *analogiczne podobieństwo różnorodności genetycznej między populacjami mateczną i potomną jest właściwe także drzewostanom świerkowym o strukturze nie zmienionej przez selekcję związaną z działalnością gospodarczą człowieka*. Drzewostan taki wybrano w rezerwacie „ Wyżnia Mała Łąka, Wantule” w Tatrach. Wiek wybranych do badań drzewostanów w Beskidach : 170, 130 i 120 lat oraz fakt znacznego przerzedzenia zwarcia koron przez, jak to określiła Autorka „ rozpad drzewostanu” i obecność młodego pokolenia świerków, które bez wątplenia były ich potomstwem, umożliwił zebranie materiału do szczegółowych badań laboratoryjnych struktury molekularnej DNA z igliwia pobranego losowo z 50-ciu osobników każdej populacji. Trzecim zagadnieniem było pytanie, *czy proces zamierania drzewostanów świerkowych w drzewostanach pochodzenia „istebniańskiego” wpływał istotnie na przekazanie informacji genetycznej pomiędzy pokoleniami drzewostanu w znacząco inny sposób niż procesy o charakterze naturalnym*. Pytanie, chociaż nie wyróżnione odrębną hipotezą, bardzo istotne, bowiem dotyczy możliwości skutków antropopresji związanej z gospodarką leśną, lub ograniczeniem

zabiegów ochrony lasu. Wybór do badań niejako kontrolnych, zróżnicowanego wiekowo drzewostanu 70-220 letnich drzew i ich potomstwa w ścisłym rezerwacie przyrody na wys. 1170-1350 m n.p.m., zlokalizowanym na terenie klimatycznie różnym od Beskidu, (bowiem w bezpośrednim sąsiedztwie pasma gór wysokich) zakładał też możliwość przetestowania nie tylko głównych założeń problemowych tematu rozprawy, ale także dodatkowych hipotetycznych czynników dynamiki zmienności genetycznej między pokoleniami drzew leśnych. Jak wspomniałem, pochodzenie drzewostanów wybrane do badań w Beskidach, było podobne (związane z populacją genetyczną okolic Istebnej). Drugim czynnikiem podobieństwa tych drzewostanów zlokalizowanych w reglu dolnym, był typ siedliskowy lasu mieszanego, ale różnił je wiek i sposób ochrony środowiska. Rezerwat „Bukowiec” był jednocześnie najstarszy (średnio 170 lat), drugi był drzewostanem nasiennym w nadleśnictwie Wisła (130 lat), a trzeci, 120-letni, tak zwany drzewostan gospodarczy zlokalizowany przy górnej granicy regła dolnego. Nie wiadomo, natomiast, czy drzewostany te zajmowały podobne stanowisko wystawy zbocza względem kierunku stron świata. Czwartym, niejako kontrolnym, jak wspomniałem, był drzewostan różnowiekowy (70 - 220-letni) rezerwat ścisły przyrody „Wantule”, w reglu górnym, na terenie Tatrzańskiego Parku Narodowego. Nawet to drobne zróżnicowanie siedliska, wieku, statusu ochrony i być może wystawy zbocza, dawało dodatkową szansę zbadania poziomu istotności wyników w zakresie hipotez roboczych. Autorka wykorzystała te szanse w dyskusji wyników i formułując wnioski.

Zmienność genetyczną badanych populacji Autorka zbadała poprzez porównanie polimorfizmu sekwencji mikrosatelitarnych DNA jądrowego w rejonie trzech loci: SpAG2, SPAC1H8 i SpAGD1, postępując ściśle według zasad metodyki analiz biochemicznych opisanych w cytowanej literaturze i stosowanych w Laboratorium Genetyki Molekularnej, Instytutu Badawczego Leśnictwa. Badania genetyczne z wykorzystaniem markerów mikrosatelitarnych DNA były stosowane w badaniach zmienności populacji kilku gatunków drzew leśnych przez różnych autorów. Uważane za markery selekcyjnie neutralne, to znaczy takie, których ekspresja nie podlega istotnym wpływom środowiska, umożliwiają identyfikację obu wariantów alleli w określonym locus DNA organizmu diploidalnego, a sposób ich dziedziczenia realizuje się według zasad genetyki mendlowskiej. Ponieważ w strukturze DNA satelitarnego obserwuje

się zwykle wysokie tempo mutacji (co zwiększa poziom zmienności allelicznej), markery mikrosatelitarne są dobrym wskaźnikiem zmian genetycznych w sukcesji pokoleniowej, uwzględniając zarówno dryf genetyczny jak i przepływ genów. Szczególnie ten ostatni proces, dzięki znacznym odległościom przenoszenia pyłku jest rozpoznawalny przy zastosowaniu metody analizy markerów mikrosatelitarnych DNA jądrowego. Pod tym względem badania genetyczne zmienności populacji wykorzystujące zmienność alleliczną choćby tylko 3-ch loci mikrosatelitarnych, kilkakrotnie przewyższają poziom informacji w porównaniu z badaniem zmienności izoenzymatycznej. Trzeba przyznać, że te wymagające dużej uwagi i znajomości pracy laboratoryjnej w dziedzinie analiz struktury DNA badania, Pani mgr Elżbieta Chomicz wykonała bardzo starannie. Ponieważ strona metodyczna badań, zdaniem recenzenta, nie budzi zastrzeżeń nie ma potrzeby referowania szczegółów jej zastosowania. Można co najwyżej z dużym uznaniem przyjąć do wiadomości fakt, że w Instytucie Badawczym Leśnictwa, istnieje możliwość zrealizowania badań porównywalnych z najbardziej współczesnym poziomem badań genetycznych znanym z literatury światowej.

Laboratoryjne badania biochemiczne genotypowania DNA każdego z loci dostarczyły potrzebnych danych do szczegółowej analizy porównawczej zmienności struktury genetycznej populacji rodzicielskich i populacji potomnych oraz całego drzewostanu. Ta część badań wymagała obliczenia kilku wskaźników statystycznych, których technikę liczenia Autorka przedstawiła w części metodycznej rozprawy. Są to wskaźniki pozwalające na: 1) zliczenie wariantów sekwencji (alleli) zidentyfikowanych w danym locus, oraz liczbę teoretyczną w przypadku zachowania równowagi Hardy-Weinberga. 2) heterozygotyczności obserwowanej, oczekiwanej i oznaczającej poziom prawdopodobieństwa, że dwa losowo wybrane z populacji allele będą różne. Zróżnicowanie populacji rodzicielskiej i potomnej w każdym drzewostanie oszacowano za pomocą współczynnika utrwalania zdefiniowanego jako miara poziomu dywergencji między subpopulacjami genetycznymi. Na podstawie współczynnika utrwalania Autorka określiła wielkość przepływu genów między populacjami rodzicielską i potomną. Podobieństwo genetyczne między tymi populacjami wyrażone zostało wskaźnikiem dystansu genetycznego.

Szczegółowe zestawienia wyników badań Pani mgr Elżbieta Chomicz przedstawiła w 17-tu Tabelach i 13-tu diagramach według kolejności ich referowania dla każdej pary populacji w badanych drzewostanach *Picea abies*. W każdym z czterech rozdziałów części rozprawy „Wyniki”, materiał badawczy został zaprezentowany w trzech identycznych podrozdziałach. Są to: 1) Frekwencja alleli, 2) Parametry zmienności genetycznej, oraz 3) Podobieństwo genetyczne i przepływ genów. Zredagowanie tej znacznej ilości materiału pomiarowego z badań własnych tylko na 23 stronach maszynopisu, świadczy o zachowaniu możliwie zwięzłego stylu opracowania, co należy zapisać na korzyść Autorki rozprawy.

Najważniejszym osiągnięciem badań Pani mgr Elżbiety Chomicz jest, nie budzące zastrzeżeń, rozwiązanie problemu zaprezentowanego w temacie rozprawy i w prawidłowo sformułowanych (choć nie oczywistych) założeniach teoretycznych hipotez roboczych. W rezultacie tych badań wnioski zapisane w końcowej części rozprawy ( jest ich 6) odzwierciedlają rzeczywisty postęp wiedzy o skali przenoszenia różnorodności informacji genetycznej między populacją drzew dojrzałych i potomstwem w procesie odnowienia naturalnego drzewostanów świerkowych wybranej części Karpat Polskich. Podstawowe dwa wnioski są następujące: 1) Bez względu na stopień żywotności ( stopień trwałości naturalnej struktury), w drzewostanach świerkowych, nawet przejawiających symptomy tak zwanego zamierania, zmienność genetyczna zostaje zachowana w samorzutnie powstającym pokoleniu potomnym - określanym terminem odnowienia naturalnego. 2) Uzyskanie porównywalnych wyników w badanych drzewostanach Beskidu Śląskiego, Żywieckiego i rezerwatu w Tatrzańskim Parku Narodowym, bez względu na zróżnicowania wiekowe ( od 70 do 220 lat ), różnicę położenia ( od 530 do 1350m n.p.m) i związków funkcjonalnych z człowiekiem, pozwala sądzić, że opisany związek zmienności genetycznej pierwszego pokolenia świerka z pokoleniem rodzicielskim może być spodziewany także w innych częściach Karpat, a zapewne także w innych warunkach środowiska. 3) Oszacowany poziom heterozygotyczności odnowienia naturalnego w zamierających drzewostanach świerkowych, to znaczy prawdopodobieństwo, że dwa allele losowo wybrane z populacji będą się różnić od siebie, ( powszechnie stosowana miara zmienności genetycznej) okazał się wysoki i nie różnił się od poziomu heterozygotyczności pokolenia potomnego w rezerwacie ścisłym. Okazało się, że poziom

heterozygotyczności odnowienia w tak zwanych drzewostanach gospodarczych jest nawet wyższy. Autorka sugeruje, że jedną z przyczyn tego wyniku jest selekcja prowadzona przez człowieka w drodze zabiegów hodowlanych. W przypadku drzewostanu gospodarczego „Skrzyczne”, gdzie zamieranie świerków było zawansowane, przepływowi genów z dalszych okolic mógł dodatkowo sprzyjać wysoki stopień przerzedzenia drzewostanu. Podsumowując, radykalne ograniczenie liczebności drzew w świerczynach sklasyfikowanych jako zamierające w Beskidzie Śląskim i Żywieckim, nie powoduje redukcji poziomu zmienności genetycznej odnowień naturalnych. Na koniec, 4) W rezultacie swych badań, Pani mgr E. Chomicz wnioskuje w części dyskusyjnej, że ograniczony dopływ genów z poza populacji w rezerwacie ścisłym może przyczyniać się do redukcji zmienności genetycznej wsoonej populacji, może bowiem zachodzić częściej, krzyżowanie między osobnikami spokrewnionymi. W tym względzie, badania dostarczyły dodatkowych danych zebranych przez innych badaczy, z których wyziera widmo sprzeczności między zaleceniami ochrony różnorodności przez faworyzowanie leśnych ścisłych rezerwatów przyrody, względem gospodarki drzewostanowej służącej zaspokojeniu także innych potrzeb człowieka. A więc gospodarki, w której przecież nie bez racji, propaguje się odnowienia materiałem pozyskanym w szkółkach leśnych jako potomstwo wyselekcjonowanych drzew, lub drzewostanów nasiennych, co znaczy, teoretycznie populacji o zawężonej różnorodności genetycznej.

Moim zdaniem, recenzowana rozprawa zasługuje na wyróżnienie ze względów, które przedstawię w skrócie poniżej. W rozdziałach „Wstęp”( 24 strony), „Dyskusja” (22 strony) i części rozdziału „Materiał i Metody” poświęconej metodyce badań biochemicznych oraz sposobom opracowań wskaźników statystycznych ( 6,5 strony), przedstawiony został wyjątkowo starannie związek badań własnych z wynikami i sugestiami zawartymi w rozległej już dziś literaturze przedmiotu. Sposób przedstawienia i wykorzystania ważnych dla własnych badań informacji z treści tych publikacji, świadczy o szczególnie rzetelnym przestudiowaniu literatury ( 269 pozycji, w tym tylko 44 w języku polskim), z wyraźną troską o powiązanie wniosków z wyników badań własnych z wiedzą zaprezentowaną przez innych autorów. Ze sposobu w jaki Pani mgr Elżbieta Chomicz przedstawiła tę dyskusję przygotowując uzasadnienie wyboru zadań badawczych i dyskutując istotność uzyskanych

wyników badań własnych wynika, że kandydatka na stopień naukowy doktora osiągnęła wysoki stopień poznania nie tylko współczesnych problemów genetyki w leśnictwie, ale także umiejętność wykorzystania złożonych metod badań laboratoryjnych w dziedzinie genetyki molekularnej, jakże potrzebnej dla przyspieszenia postępu wiedzy o strukturze informacji genetycznej związanej z procesami wzrostu, rozwoju i zachowania żywotności drzew leśnych. Druga część mojego uzasadnienia wniosku o wyróżnienie, wynika z faktu znakomitego (zdaniem recenzenta) przedstawienia przez Autorkę, istoty wyników swych badań w rozdziale "Dyskusja". Ma to szczególne znaczenie, bowiem w opracowaniu 6-ciu „Wniosków” dwa pierwsze zawierają rzeczywiste wnioski wyjaśnienie problemy zawarte w hipotezach roboczych. Kolejne wnioski Autorka formułowała bardzo ostrożnie, ograniczając się w zasadzie do powtórzenia podsumowania wybranych części wyników. Ale, ta ostrożność staje się zrozumiała i zasługuje na uznanie dopiero po uważnym przestudiowaniu treści rozdziału „Dyskusja”. Przyjęcie takiej strategii formułowania wniosków w toku dyskusji pozwoliło, ukazać możliwość przedstawienia hipotetycznych prawidłowości dostrzeżonych w wynikach własnych badań (wykraczających poza ustalony we wstępie zakres rozprawy) na tle problemów pochodnych różnych aspektów różnorodności biologicznej, dziedziczenia cech, przepływu genów, wsobności, frekwencji alleli i heterozygotyczności populacji potomnych. Nie sposób powtórzyć w krótkiej recenzji rozprawy, wagi pokaźnego ładunku informacji zawartego w tych niespełna 22-ch stronach tekstu dyskusji, jest on jednak na tyle poważny i jasno przedstawiony, że jego lekturę można by wykorzystać w dobrym wykładzie akademickim. Ponieważ, jak mówią uczeni, dobra praca badawcza daje nie tylko odpowiedź w zakresie racjonalnie sformułowanych hipotez roboczych, ale także daje racjonalne podstawy do formułowania nowych zadań badawczych i rozwoju wiedzy, należy uznać, że taka właśnie jest recenzowana rozprawa doktorska Pani Elżbiety Chomicz. Daje ona bowiem, podstawy sformułowania hipotezy, że obserwowane zachowanie poziomu, a nawet powiększenie zmienności genetycznej badanych loci neutralnych markerów mikrosatelitarnych w potomstwie drzewostanów gospodarczych, odnosi się również do skali zmienności loci genów (lub raczej kompleksów tych sekwencji nukleotydów w strukturze DNA jądrowego), które kontrolują ekspresję potencjału twórczego merystemów wierzchołkowych i kambium. W ten

sposób, wyniki zaprezentowane w recenzowanej rozprawie mogą, służyć jako uzasadnienie przyszłych programów badań poświęconych poszukiwaniu loci cech ilościowych, tak zwanych QTL (ang. Quantitative Traits Loci), które muszą poprzedzać opracowanie praktycznych sposobów uruchomienia rezerw potencjału produkcyjnego, lub możliwości wykorzystania innych funkcji lasów.

Treść tej rozprawy z niewielką modyfikacją, zasługuje na opublikowanie co najmniej w dwóch artykułach. Jednym, prezentującym wyniki badań własnych i drugim, przeglądowym zawierającym dyskusję. Ponad to warto zastanowić się jak pogodzić tę formę upowszechnienia wiedzy z koniecznością publikacji wyników badań w obcojęzycznych czasopismach listy filadelfijskiej, a jednocześnie w języku polskim, w celu udostępnienia ich wielu leśnikom i ekologom w Polsce, spierającym się o kompetencje w dziedzinie ochrony lasów i gospodarki leśnej w naszym Kraju.

Wniosek końcowy:

Po uważnym przestudiowaniu kolejnych rozdziałów przedstawionej mi do zaopiniowania rozprawy doktorskiej Pani mgr Elżbiety Chomicz, wyrobiłem sobie przekonanie, że mam do czynienia z wyjątkowo spójnym, logicznie powiązanim i jasno zredagowanym, kompletnym raportem o badaniach z dziedziny zmienności genetycznej drzewostanów w górskich ekosystemach leśnych, ważnym dla ochrony i hodowli lasu. Ta wysoce pozytywna opinia dotyczy także, (i nie tylko) uzasadnienia hipotez roboczych wynikających z rzetelnie przestudiowanej literatury przedmiotu, ale i konsekwentnie zrealizowanego, w zakresie wybranej metodologii, programu badań własnych. Zdaniem recenzenta przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia w zupełności wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę o Stopniach i Tytułach Naukowych, przedstawiam więc Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Badawczego Leśnictwa w Sękocinie Starym wniosek o dopuszczenie Pani mgr Elżbiety Chomicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Tomasz J. Wodzicki

