

Dr hab. Włodzimierz Buraczyk
Katedra Hodowli Lasu
SGGW w Warszawie
ul. Nowoursynowska 159
02-776 Warszawa
e-mail: wburaczyk@wp.pl
tel: (22) 5938104; 608315607

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Koneckiej
„Wpływ metod produkcji szkółkarskiej na kształtowanie się struktury genetycznej
materiału sadzeniowego sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.)”
wykonanej pod kierunkiem dr hab. Justyny Nowakowskiej, prof. IBL
Instytut Badawczy Leśnictwa

Duża różnorodność genetyczna jest głównym czynnikiem zwiększającym zdolności adaptacyjne, zarówno pojedynczych osobników jak i populacji drzew, do zmieniających się warunków środowiska. Zaś niski poziom zmienności genetycznej drzewostanów sprawia, że ekosystemy leśne stają się mniej stabilne i bardziej narażone na negatywne oddziaływanie czynników biotycznych oraz niekorzystne zmiany środowiska. Mimo coraz szybciej rozwijających się badań genetycznych, szczególnie molekularnych, nadal brakuje jednoznacznych informacji na temat zmian struktury genetycznej drzewostanów powodowanych aktywnością ludzką. Obecny rozwój badań genetycznych daje nowe i skuteczne możliwości poznawania zmienności drzew, nie tylko w oparciu o markery morfologiczne i fizjologiczne, ale głównie o struktury molekularne genotypów drzew leśnych.

Umiejętność identyfikacji poszczególnych genów oraz ich form (alleli), daje nową możliwość określenia stopnia zróżnicowania genetycznego populacji, gdzie szczególnie istotne może być wykrycie alleli uważanych za rzadkie (marginalne), które mogą okazać się kluczowe w dostosowywaniu się populacji drzew leśnych do zmieniającego otoczenia.

Dlatego podjęty w pracy cel można uznać za uzasadniony i bardzo istotny w poznawaniu bezpośrednich skutków działań gospodarczych w zakresie ewentualnych zmian struktur genetycznych przyszłych populacji drzew leśnych. Jakość przyszłych pokoleń drzew leśnych będzie zależała nie tylko od bezpośredniego przekazania im puli genetycznej drzewostanów matecznych poprzez wybór odpowiedniej bazy nasiennej, ale w dużym stopniu też od licznych działań gospodarczych. Baza nasienna w Polsce (WDN, GDN, PN, PUN i DM) została wybrana na podstawie cech fenotypowych i dlatego od 2004 roku jest sprawdzana pod względem genetycznym w ramach krajowego programu testowania

potomstwa wyłączonych drzewostanów nasiennych, drzew matecznych, plantacji nasiennych i plantacyjnych upraw nasiennych. Program ten wskaże obiekty gospodarcze, z których potomstwo w wysokim stopniu odziedzicza cechy drzew lub drzewostanów matecznych i na tej podstawie powstanie IV kategoria LMR (z przetestowanego źródła). Takie działanie powinno podnieść jakość hodowlaną przyszłych pokoleń drzew, przy jednoczesnym zachowaniu bogatej puli genetycznej, ale pod warunkiem, że standardowe zabiegi gospodarcze stosowane w leśnictwie nie zakłócą tego procesu.

Zróznicowanie puli genowej najczęściej jest określane za pomocą frekwencji różnych wariantów alleli (różnych form) poszczególnych genów zapisanych w łańcuchu DNA. W leśnictwie współczesne badania genetyki molekularnej umożliwiają precyzyjną identyfikację genów i ich form na poziomie informacji genetycznej zawartej w DNA jądrowym, mitochondrialnym i chloroplastowym. Tak więc, molekularne badania genetyczne mogą być precyzyjnym narzędziem do badania wpływu zabiegów hodowlanych oraz innych działań gospodarczych na strukturę genetyczną przyszłych drzewostanów. Szczególne znaczenie może to mieć w okresie szybkich i często nieodwracalnych zmian klimatycznych, gdzie allele marginalne mogą okazać się bardzo cenne dla określonych populacji każdego gatunku drzewiastego. Szczególnie w aspekcie możliwości przystosowania się do zmienionych warunków w skutek np. ocieplenia klimatu.

Zabiegi hodowlane w drzewostanach gospodarczych są niezbędne, ale na dotychczasowym etapie rozwoju nauki brak jest precyzyjnych informacji na temat zmian struktury genetycznej drzewostanów spowodowanych działalnością ludzką. Zabiegi typowo hodowlane (pielęgnacyjne i sanitarne), selekcja sztuczna stosowana przy losowym wyborze drzew do pozyskania nasion, separacja nasion czy selekcja sadzonek, powinny prowadzić do redukcji zmienności genetycznej, ale czy rzeczywiście tak jest? Koniecznym staje się więc poznanie procesów genetycznych zachodzących zarówno w gospodarczych drzewostanach, jak też w naturalnych, czyli bez ingerencji człowieka. Czy następstwo pokoleń drzew w naturalnych ekosystemach, oparte o bardzo ostrą selekcję naturalną, prowadzi do zawężenia puli genowej, czy może w większym stopniu sprzyja przystosowaniu się kolejnych pokoleń do zmieniających się warunków klimatycznych? Są to istotne zagadnienia, które wcześniej trudno było sprecyzować, zaś dzisiejsze osiągnięcia genetyki molekularnej dają szerokie możliwości ich zbadania. Nowe narzędzia badawcze dają więc możliwość oceny struktury genetycznej nowo kształtowanych populacji drzew oraz pozwalają określić pozytywne, jak i negatywne skutki ewentualnych zmian genetycznych. Dlatego podjęte w pracy próby określenia wpływu sposobu produkcji sadzonek na zróżnicowanie genetyczne powstałych z

nich drzewostanów, stanowi aktualne i ważne wyzwanie naukowe, które powinno wnieść nowe informacje naukowe w tym zakresie. Tym w pełni uzasadnia celowość podjętej w dysertacji tematyki badawczej.

Ocena pracy

Przedłożona do recenzji praca doktorska Pani Agaty Koneckiej liczy 131 stron. Zawiera 14 rycin i 24 tabele, co można uznać za typową objętość dla tego typu opracowań. Praca posiada klasyczny układ struktury, składa się z 8 głównych numerowanych części traktowanych jako rozdziały. Trzy z nich posiada podrozdziały drugiego, a jeden trzeciego rzędu. Podział pracy na rozdziały i podrozdziały, pod względem treści i numeracji stron, jest zgodny ze spisem treści. Właściwy tekst pracy jest poprzedzony streszczeniem w języku polskim i angielskim wraz z 4 słowami kluczowymi, odzwierciedlającymi najważniejsze zagadnienia poruszone w pracy. W streszczeniu mogła autorka zamieścić więcej, bardziej sprecyzowanych informacji zamiast ogólników typu: „Badania potwierdziły znaczący wpływ człowieka na kształtowanie się puli leśnych zasobów genowych i wskazują na potrzebę szerszego prowadzenia badań na dalszych etapach hodowli lasów” oraz powtarzania tych samych informacji.

Spis literatury jest bardzo bogaty i zawiera 234 pozycji, z których 181 stanowią prace naukowe w językach obcych, głównie angielskim. Na podkreślenie zasługuje fakt, że zdecydowana większość prac źródłowych ma charakter typowych opracowań naukowych prezentowanych w wysoko punktowanych czasopismach międzynarodowych, co dowodzi ich wysokiej wartości naukowej. W tak bogatym spisie literatury znaleziono kilka pozycji, których nie udało się odszukać w tekście pracy (np., autorzy: YuX.M. i inn. 2006, Svoboda P., . 1953). W spisie literatury nie stwierdzono wyraźnych usterek edytorskich.

Dwa pierwsze rozdziały „Wstęp” i „Przegląd literatury” szeroko i w sposób wyczerpujący wprowadzają w problematykę podjętych badań. We wstępie autorka, na tle bardzo ogólnych informacji o aktualnych możliwościach badań molekularnych genów i alleli, przybliży zagadnienie zmienności genetycznej populacji drzew leśnych oraz jego rolę w świetle ewentualnych zmian klimatycznych oraz działań gospodarczych w ekosystemach leśnych. Drugi, 25-stronicowy rozdział zwany „Przeglądem literatury”, został podzielony na 3 podrozdziały, w których zostały szczegółowo opisane zagadnienia związane ze sposobami określania zróżnicowania genetycznego drzew leśnych, czynnikami wpływającymi na zmienność genetyczną drzew oraz w odrębnej części została przedstawiona ogólna charakterystyka sosny zwyczajnej oraz jej zmienność genetyczna. Podział przeglądu literatury

na 3 części pozwala łatwiej przybliżyć zagadnienia związane z genetyką molekularną. Autorka zrobiła to w sposób przejrzysty i zrozumiały dla odbiorcy mniej wtajemniczonego w zagadnienia genetyki molekularnej. W dostępny sposób opisała zagadnienia takie jak: budowa DNA, allele, markery genetyczne, polimorfizm, przepływ genów, dryf genetyczny, selekcja, mutacja czy rekombinacja genetyczna. Wyczerpująco przedstawiła dostępne w literaturze informacje na temat czynników antropogenicznych wpływających na zmiany różnorodności drzew leśnych, w tym też wpływu działań gospodarczych.

Trzeci rozdział zawiera cel pracy z uwzględnieniem celów cząstkowych oraz postawionych hipotez badawczych. Autorka przyjęła założenie, że dwie populacje sosny będące obiektem badań, pod względem zmienności genetycznej nie odbiegają od poziomu zróżnicowania genetycznego gatunku na terenie Polski, zaś większym zróżnicowaniem genetycznym powinno charakteryzować się potomstwo z produkcji kontenerowej. Szkoda, że w badaniach nie uwzględniono potomstwa drzewostanów matecznych powstałych w sposób naturalny, czyli odnowień naturalnych w miejscu ich występowania.

Rozdział „Metodyka” jest mocno rozbudowany, zawiera 6 podrozdziałów. Pierwszy podrozdział dotyczy zbioru materiału roślinnego. Opisano 2 drzewostany (Nadleśnictwo Olsztynek oraz Oleszyce), z których zebrano nasiona do produkcji sadzonek oraz sposób pobrania materiału roślinnego do badań genetycznych. W pracy jest brak opisu rozmieszczenia drzew w drzewostanie, z których pobrano materiał roślinny do badań genetycznych. Lokalizacja drzew, a szczególnie odległości między nimi mogły mieć wpływ na wymianę pyłku między drzewami w drzewostanie i tym samym wpływać na strukturę genetyczną potomstwa. Jeśli w badaniach chcemy mówić o populacji, to drzewa próbne powinny być rozmieszczone równomiernie w badanym drzewostanie, żeby mogły w jak największym stopniu go reprezentować. Autorka dysertacji nie podała też terminu zbioru szyszek, sposobu wyłuszczenia i przechowywania, oraz informacji o sposobie mieszania nasion z poszczególnych drzew. Dla potwierdzenia autentyczności pochodzenia leśnego materiału rozmnażeniowego zostały przedstawione świadectwa pochodzenia, które powinny być zamieszczone w dodatkowym rozdziale „Załączniki”.

W bardzo ogólny sposób przedstawiono sposób hodowli sadzonek, bez podania szczegółów procesu technicznego. Można przypuszczać, że wynikało to z założenia, że warunki wzrostu sadzonek nie powinny mieć wpływu na ich strukturę genetyczną. Opis oznaczenia wariantów nie budzi większych zastrzeżeń, zaś sposób pobierania prób materiału roślinnego z sadzonek powinien być precyzyjnie wyjaśniony. Szczególnie należy wyjaśnić na czym polegał losowy wybór sadzonek w szkółce gruntowej. Czy w badaniach uwzględniono

sadzonki z całego zakresu ich wysokości, czy wybierano losowo tylko te, które spełniają normy jakościowe? Brakuje także informacji o jakości nasion oraz o ich wielkości, co ma istotny wpływ na początkową fazę ich wzrostu. Niektóre drzewa mogą produkować bardzo małe nasiona, z których powstają bardzo małe siewki nie spełniające wymagań określonych przez normy na materiał sadzeniowy. Dlatego wybierając do badań tylko sadzonki spełniające wymagania norm, można wyeliminować potomstwo niektórych drzew matecznych.

W podrozdziałach 4.2, 4.3, 4.4 i 4.5 przedstawiono sposób ekstrakcji DNA, amplifikacji DNA jądrowego i chloroplastowego oraz ustalenia polimorfizmu otrzymanych sekwencji. Podrozdziały te nie są mocno rozbudowane ale w sposób zadawalający i zrozumiały opisują zastosowane metody oraz procedury badań molekularnych DNA. Rozdział 4.4 zawiera mało zrozumiały fragment, który wymaga korekty („zarówno chloroplastowe, jak i iglastych DNA chloroplastowe dziedziczone jest po mitochondrialne”). Rozdział 4.6 zawiera przejrzysty opis zastosowanych metod statystycznych do analizy danych, a szczególnie współczynników charakteryzujących zmienność genetyczną badanych populacji matecznych i potomnych.

Rozdział „Wyniki” zawiera 34 strony i przedstawia w formie tabelarycznej i graficznej wyniki analiz statystycznych w układzie bezpośrednio nawiązującym do założeń metodycznych. W dwóch osobnych podrozdziałach oceniono zmienność genetyczną DNA jądrowego oraz chloroplastowego z podziałem na populacje wyróżnione w ramach dwóch nadleśnictw. W podrozdziałach 3 rzędu przedstawiono szczegółowe wyniki analiz ilościowych i ilościowych obu form DNA. Przyjęty układ prezentacji wyników daje przejrzysty obraz przeprowadzonych analiz, co z kolei umożliwi kompleksowe wnioskowanie. W rozdziale „Wyniki” można było zamieścić zestawienie bezpośrednio porównujące dane z obu nadleśnictw, czyli na jednym wykresie lub w jednej tabeli.

Podział rozdziału „Dyskusja” na 3 podrozdziały tematyczne i 1 podsumowujący, daje możliwość prowadzenia niezależnej, dyskusji wynikającej z przyjętej metodyki oraz dokonanego tematycznego opisu wyników. W niektórych fragmentach dyskusji można było ograniczyć powtarzanie wyników. Podrozdział czwarty (6.4.) scala szczegółowe wątki genetyczne i podsumowuje całość poprzez nawiązanie do takich zagadnień jak: sposoby odnowień lasu w Polsce, technologie produkcji sadzonek, a szczególnie technologia kontenerowa czy mikoryzacja sadzonek. Autorka podjęła próbę powiązania technologii kontenerowej ze wzrostem zmienności genetycznej takich sadzonek, odnosząc się jednocześnie do aspektu ekonomicznego produkcji sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym. Podkreślając nieznacznie większe zróżnicowanie genetyczne sadzonek z

bryłką, można odnieść wrażenie, że jest to próba poszukiwania dodatkowego argumentu uzasadniającego potrzebę rozwoju szkółkarstwa kontenerowego.

Pracę kończy rozdział „Wnioski” składający się z 8 sformułowań w większości wynikających z przeprowadzonych badań. Wyjątek stanowi wniosek nr 7, który można uznać za ogólne stwierdzenie jeszcze nie poparte badaniami.

Wniosek końcowy

Uważam, że praca doktorska Pani mgr inż. Agaty Koneckiej stanowi samodzielny, cenny dorobek naukowy w zakresie nauk leśnych. Zaprojektowanie i przeprowadzenie badań, szczególnie w części laboratoryjnej, oraz analiza i interpretacja wyników wskazują na szeroką wiedzę, dobrą znajomość literatury z zakresu genetyki molekularnej, czym potwierdzają umiejętność samodzielnego prowadzenia badań przez autorkę dysertacji.

W pracy stwierdziłem drobne usterki, niedociągnięcia, czy też niezręczności stylistyczne, które można bez trudu usunąć przygotowując pracę do publikacji. Praca stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego problemu, którego jeszcze w Polsce nikt nie podejmował. Dlatego przeprowadzone badania można określić mianem pionierskich o dużej wartości praktycznej, ponieważ odnoszą się bezpośrednio do stosowanej w gospodarce nowej technologii produkcji sadzonek z zakrytym systemem korzeniowym. Szczególnie rozdziały „Dyskusja” i „Wnioski” potwierdzają zdolność niekonwencjonalnego myślenia autorki, zaś uzyskane wyniki badań przedstawione w dysertacji wzbogacają wiedzę w podjętej tematyce.

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Agaty Koneckiej „Wpływ metod produkcji szkółkarskiej na kształtowanie się struktury genetycznej materiału sadzeniowego sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.)” wykonana pod kierunkiem dr hab. Justyny Nowakowskiej, prof. IBL, jest zgodna z wymaganiami art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym i tym samym spełnia warunki stawiane rozprawie doktorskiej. W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie mgr inż. Agaty Koneckiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora



Warszawa dnia 29.04.2016 r..