

Recenzja rozprawy doktorskiej

Imię i nazwisko kandydatki: Joanna Kołodziejczyk

Jednostka: Instytut Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk

Tytuł rozprawy doktorskiej: Genetyczne i pozagenetyczne mechanizmy kształtujące inwazyjność w świetle najnowszych badań – znaczenie lokalnych adaptacji i zmienności mikrobiomu na przykładzie szopa pracza *Procyon lotor*

Promotor: dr hab. Aleksandra Biedrzycka, prof. IOP PAN

Promotor pomocniczy: dr hab. Maciej Konopiński, prof. IOP PAN

Recenzent: prof. dr hab. Michał Grabowski, Uniwersytet Łódzki

1. Wartość naukowa rozprawy

a. Oryginalność badań

W mojej opinii, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pani mgr Joanny Kołodziejczyk charakteryzuje się nowatorskim, szerokim podejściem do problematyki sukcesu gatunków inwazyjnych. Autorka podjęła ambitne wyzwanie naukowe, jakim jest próba rozwiązania tzw. „paradoksu genetycznego inwazji”. W tradycyjnym ujęciu niska zmienność genetyczna populacji założycielskiej powinna ograniczać potencjał adaptacyjny gatunku inwazyjnego, jednak wiele takich gatunków, w tym szop pracza, wykazuje daleko idącą zdolność do kolonizacji nowych siedlisk. Podejmując się próby wyjaśnienia tego zjawiska, Doktorantka wykracza poza standardowe ramy analiz w zakresie genetyki populacyjnej, integrując nowoczesne badania genomowe z badaniami czynników pozagenetycznych, a konkretnie analizą mikrobiomu przewodu pokarmowego.

Unikalnym elementem pracy jest konsekwentne i uszczegóławiające podejście do prowadzonych badań: od szerokiej syntezy wiedzy dotyczącej wykorzystania narzędzi genomicznych w badaniu mechanizmów inwazji u różnych organizmów, uzyskanej poprzez systematyczny przegląd światowej literatury, po precyzyjnie zaplanowane badania empiryczne na modelu szopa pracza – północnoamerykańskiego gatunku, którego inwazja w Europie jest niezwykle skuteczna i spektakularna. Bardzo ciekawym aspektem rozprawy jest analiza zjawiska „dopasowania siedliskowego” (*habitat matching*) na poziomie molekularnym, co rzuca nowe światło na mechanizmy selekcji zachodzącej równolegle w geograficznie izolowanych populacjach. Autorka analizuje również rolę elastyczności mikrobiomu przewodu pokarmowego (jama gębowa, jelito) szopa jako mechanizmu kompensującego ubytki w puli genowej gospodarza. Takie podejście nie tylko poszerza teoretyczną wiedzę z zakresu ekologii ewolucyjnej, ale również wprowadza nowe wątki do badań nad gatunkami obcymi, sugerując, że inwazyjność organizmów wynika z synergii interakcji na wielu poziomach organizacji biologicznej.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów

Rozprawa, przygotowana w formie spójnego cyklu trzech publikacji (w tym dwóch już opublikowanych), reprezentuje bardzo wysoki poziom merytoryczny, potwierdzony również przez prestiż czasopism, w których ukazały się wyniki. Nie waham się stwierdzić, że **artykuł 1**, opublikowany w *Biological Reviews* (Q1, JIF 98,6, IF_{5-letni} 14,4), stanowi monumentalne kompendium wiedzy. Autorka i jej zespół wykonali ogromną pracę, analizując 120 artykułów, co pozwoliło na zidentyfikowanie uniwersalnych wzorców genomowych towarzyszących inwazjom biologicznym. Wartość tego opracowania polega m.in. na obaleniu uproszczonych schematów dotyczących efektu wąskiego gardła i wskazaniu, że lokalne adaptacje są procesem znacznie szybszym i częstszym, niż wcześniej przypuszczano.

Artykuł 2, złożony do druku w *Molecular Ecology* (Q1, JIF 76,6, IF_{5-letni} 4,8) i będący obecnie w recenzji, wnosi konkretny wkład empiryczny, wykorzystując metodę RAD-seq do analizy zróżnicowania genetycznego i porównania struktury genetycznej populacji szopa pracza w dwóch obszarach, w których ewoluują one niezależnie od ponad 75 lat – rodzimym (USA) oraz inwazyjnym (Europa: Polska, Niemcy, Czechy). Identyfikacja *loci* podlegających selekcji, które są związane np. z procesami poznawczymi, rozrodem, aktywnością metaboliczną, mechanizmami odporności, czy tolerancją na

czynniki środowiska, jest kluczowe dla zrozumienia, jak presja środowiskowa (np. klimat) kształtuje ewolucję gatunku inwazyjnego. To badanie stanowi doskonały przykład badań z zakresu tzw. „genomiki krajobrazu”.

Artykuł 3, opublikowany w *NeoBiota* (Q1 in Ecology, JIF 73,0, IF_{5-letni} 3,9), koncentruje się na zbadaniu roli mikrobiomu jamy gębowej i jelita szopa w skutecznej kolonizacji nowych terenów w porównaniu z populacjami w obszarze rodzimym. Doktorantka analizuje, w jaki sposób zmiany w składzie i funkcjach mikroorganizmów oraz procesy demograficzne wpływają na zdolności adaptacyjne i sukces inwazyjny tego gatunku. Ciekawym wynikiem jest wykazanie, że proces inwazji zmienia skład taksonomiczny mikrobioty u szopa pracza, jednak pozostaje ona wysoce zróżnicowana, bez wyraźnych oznak niestabilności i o potencjale funkcjonalnym nieodbiegającym znacząco od populacji rodzimych. Potwierdza to tezę o wysokim potencjalnie adaptacyjnym szopów, utrzymywanym zarówno dzięki wysokiemu poziomowi zróżnicowania genetycznego, jak i, w zależności od sytuacji, zdolnościom do długoterminowego utrzymywania oraz efektywnego odtwarzania mikrobiomu o korzystnych właściwościach funkcjonalnych.

2. Wartość merytoryczna rozprawy

Bardzo wysoko oceniam zarówno wartość merytoryczną rozprawy, jak i dojrzałość naukową Doktorantki, wyrażoną między innymi w umiejętnym planowaniu badań – choć wiadomo, że na tym etapie kariery naukowej Doktorantka była niewątpliwie wspierana w tym zakresie przez zespół znakomitych promotorów. Warto docenić, że Doktorantka wykazała się umiejętnością klarownego wprowadzania czytelnika w skomplikowaną tematykę ekologii molekularnej. Sformułowane hipotezy badawcze są logiczne, osadzone w aktualnych trendach światowej nauki i, co najważniejsze, weryfikowalne za pomocą zastosowanego aparatu badawczego.

Na uznanie zasługuje również część metodyczna rozprawy. Doktorantka biegle posługuje się zaawansowanymi technikami wysokoprzepustowego sekwencjonowania (HTS) oraz pakietami do analiz bioinformatycznych (np. Stacks, QIIME2). Dobór narzędzi statystycznych, takich jak analizy SNP outlier czy testy PERMANOVA i ANCOM-BC dla mikrobiomu, jest moim zdaniem adekwatny do postawionych pytań badawczych. Autorka nie tylko generuje dane, ale potrafi je syntetyzować – sposób przedstawienia wyników w formie czytelnych rycin i map ułatwia śledzenie toku wyводу.

Krytyczna analiza wyników przeprowadzona w dyskusji ogólnej świadczy o bardzo dobrej znajomości literatury przedmiotu. Autorka potrafi skonfrontować własne odkrycia z klasycznymi teoriami dotyczącymi biologii inwazji, takimi jak *Enemy Release Hypothesis*, wskazując jednocześnie na ich ograniczenia. Wnioski końcowe są sformułowane w sposób poprawny, ostrożny, ale zarazem konkretny. Autorka słusznie podkreśla, że zrozumienie mechanizmów adaptacyjnych ma wymiar praktyczny – pozwala na lepsze prognozowanie zasięgu inwazji i projektowanie skuteczniejszych strategii zarządzania populacjami gatunków obcych w Europie, co nadaje pracy walor aplikacyjny.

3. Poprawność redakcyjna rozprawy

Pod względem redakcyjnym rozprawa została przygotowana niemal wzorcowo. Układ pracy jest przejrzysty i zgodny z wymogami stawianymi rozprawom w formie cyklu publikacji. Autorka zadbała o logiczną ciągłość między wstępem teoretycznym, celami a poszczególnymi artykułami, co sprawia, że praca, mimo złożenia z oddzielnych tekstów, stanowi jedną całość. Styl pisania charakteryzuje się oszczędnością w słowach, a jednocześnie klarownością. Język naukowy używany przez Autorkę charakteryzuje się poprawnością terminologiczną, zarówno w częściach polskojęzycznych, jak i w anglojęzycznych artykułach.

Moje uznanie wzbudza szata graficzna. Wykresy analizy głównych składowych (PCoA), wizualizacje wyników wzbogacenia ontologii genów (GO enrichment) oraz mapy rozmieszczenia populacji są wykonane z dużą estetyką i dbałością o detale, co znacząco podnosi jakość odbioru pracy. Tabele są czytelne i zawierają wszystkie niezbędne parametry statystyczne. Bibliografia jest obszerna, aktualna i poprawnie sformatowana, co świadczy o rzetelności warsztatu badawczego Doktorantki. Streszczenia w obu językach zostały przygotowane z dużą starannością. Całość wystawia Doktorantce jak najlepsze świadectwo w zakresie staranności i dbałości o warsztat edytorski.

4. Uwagi krytyczne

Recenzowana rozprawa doktorska reprezentuje świetny poziom, niemniej jednak, zawsze można i należy wskazać obszary, które mogą stanowić pole do dyskusji lub wymagają doprecyzowania w przyszłych badaniach.

Moja pierwsza uwaga dotyczy zaprezentowanego przeglądu literatury (**Artykuł 1**), można zapytać o kryteria włączania prac. Choć analiza 120 artykułów jest imponująca, skupia się ona niemal wyłącznie na publikacjach anglojęzycznych. Czy Autorka bierze pod uwagę możliwość wystąpienia błędu publikacyjnego (tzw. *publication bias*), gdzie badania wykazujące brak lokalnych adaptacji lub brak sygnałów selekcji rzadziej trafiają do renomowanych czasopism indeksowanych w Web of Science? Ponadto, przegląd ten obejmuje bardzo szerokie spektrum taksonów. Czy zdaniem Autorki mechanizmy genomowe inwazji u bezkręgowców wodnych są rzeczywiście porównywalne z mechanizmami u ssaków drapieżnych, czy może zbyt szeroka synteza zacierza istotne różnice w biologii między organizmami bardzo odległymi filogenetycznie?

W **Artykule 2** Autorka identyfikuje podlegające selekcji fragmenty genomu, które są powiązane z procesami poznawczymi i zachowaniem. Jest to niezwykle intrygujący wynik, niemniej jednak interpretacja tych danych wymaga dużej ostrożności. Wykazanie sygnałów selekcji w genomie (tzw. *outliers*) sugeruje adaptację, ale bez bezpośrednich testów behawioralnych lub funkcjonalnych pozostaje ona w sferze hipotez opartych na adnotacjach genów. Czy Doktorantka rozważała, w jaki sposób można by zweryfikować przełożenie tych mutacji na większą innowacyjność lub zdolność uczenia się szopów w Europie?

Kwestią dyskusyjną jest zawsze dobór markerów molekularnych. Wykorzystanie RAD-seq jest standardem w genomice populacyjnej, jednakże metoda ta ma swoje ograniczenia – skupia się na polimorfizmach SNP w okolicach miejsc restrykcyjnych. W kontekście szybkiej adaptacji inwazyjnej, kluczową rolę mogą odgrywać również warianty strukturalne (CNVs – *Copy Number Variants*) oraz zmiany epigenetyczne (np. metylacja DNA), które nie są wychwytywane przez RAD-seq. Biorąc pod uwagę badany problem „paradoксу genetycznego”, brak danych epigenetycznych pozostawia pewien niedosyt, gdyż to właśnie mechanizmy epigenetyczne są często wskazywane jako „szybki łącznik” między środowiskiem a genomem w populacjach o niskiej zmienności. Niemniej jednak, zdaję sobie sprawę, że realizacja badań w ramach rozprawy doktorskiej ma swoje ograniczenia – zarówno czasowe, jak i finansowe – nie da się zrobić wszystkiego.

Moja kolejna uwaga dotyczy reprezentatywności prób. W **Artykule 3**, dotyczącym mikrobiomu, jedna z populacji w obszarze rodzimego zasięgu charakteryzuje się niską liczebnością pobranych próbek (Nebraska, n=7 i n=9). Choć analiza statystyczna została przeprowadzona poprawnie, tak mała liczba próbek może nie oddawać w pełni zmienności wewnątrz- i międzyosobniczej mikrobiomu. Należy się również zastanowić, czy specyficzne różnice odnotowane między populacjami z Nebraski a Florydy nie wynikają w większym stopniu z czynników losowych lub chwilowej diety odłowionych osobników, niż z trwałych różnic populacyjnych. Choć Doktorantka wspomina o tym ograniczeniu, warto byłoby rozwinąć ten wątek w kontekście interpretacji „funkcjonalnej redundancji”.

Na koniec warto zwrócić uwagę na aspekt ekologiczny. W badaniach mikrobiomu kluczowe znaczenie ma dieta. Czy próbki kału lub treści jelitowej były pobierane w tym samym sezonie we wszystkich populacjach? Mikrobiom wykazuje dużą zmienność sezonową związaną z dostępnością pokarmu (np. owoce vs bezkręgowce). Brak pełnej kontroli nad zmienną sezonową może być czynnikiem zakłócającym wyniki porównań między populacjami na różnych kontynentach.

Powyższe uwagi mają oczywiście charakter dyskusyjny i nie obniżają mojej ogólnej, bardzo wysokiej oceny pracy. Stanowią one raczej dowód na to, że rozprawa mgr Kołodziejczyk prowokuje do ważnych pytań badawczych i otwiera nowe perspektywy w nauce.

5. Ocena końcowa

Podsumowując całokształt przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej mgr Joanny Kołodziejczyk, stwierdzam z pełnym przekonaniem, że stanowi ona wartościowe osiągnięcie w dyscyplinie nauk biologicznych. Autorka z metodologiczną biegłością podjęła istotny problem

współczesnej ekologii ewolucyjnej – mechanizmy pozwalające gatunkom inwazyjnym na błyskawiczną adaptację do nowych warunków środowiskowych mimo ograniczonej puli genowej.

Największą wartością pracy jest połączenie różnych wątków. Analizy genomiczne (RAD-seq) i badania metagenomiczne mikrobiomu jelitowego pozwoliło na sformułowanie kompleksowej odpowiedzi na pytanie o przyczyny sukcesu inwazyjnego szopa pracza. Wykazanie znaczenia „dopasowania siedliskowego” oraz funkcjonalnej stabilności mikrobiomu jest bardzo ciekawym odkryciem. Opublikowane artykuły wchodzące w skład rozprawy ukazały się w renomowanych międzynarodowych czasopismach naukowych, w tym w prestiżowym *Biological Reviews*, co jest nie jest wciąż standardem na etapie doktoratu.

Mgr Joanna Kołodziejczyk udowodniła, że posiada kompetencje niezbędne do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej: od umiejętności syntetycznego ujęcia literatury światowej, przez biegłość w warsztacie bioinformatycznym, po zdolność do rzetelnej i krytycznej interpretacji wyników. Przedłożona rozprawa w pełni spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim. W związku z powyższym, z pełnym przekonaniem wnioskuję do Wysockiej Rady Naukowej o dopuszczenie Autorki do publicznej obrony, a ze względu na wyjątkową wartość merytoryczną i publikacyjną dzieła, o jego **wyróżnienie**.

Ja, niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr **Joanny Kołodziejczyk** spełnia warunki określone Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Wnioskuję zatem do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie **mgr Joanny Kołodziejczyk** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Uważam, że rozprawa doktorska mgr Joanny Kołodziejczyk w pełni zasługuje na wyróżnienie ze względu na jej wartość naukową, innowacyjność oraz wartościowy dorobek publikacyjny. Doktorantka opublikowała wyniki swoich badań w czasopismach o zasięgu globalnym i bardzo wysokim współczynniku wpływu, w tym w prestiżowym *Biological Reviews* (IF=14,4) oraz *NeoBiota* (IF=3,9). Publikacja w tak znaczących periodykach na etapie doktoratu jest osiągnięciem rzadkim i świadczy o najwyższym uznaniu rezultatów przez międzynarodowe środowisko eksperckie. Praca charakteryzuje się **nowatorskim podejściem metodologicznym**, łączącym nowoczesną genomikę populacyjną (sekwencjonowanie NGS) z analizami mikrobiomu. Takie interdyscyplinarne ujęcie pozwoliło Autorce na zaproponowanie oryginalnych rozwiązań dla jednego z bardzo istotnych problemów biologii inwazji. Wykazanie roli dopasowania środowiskowego) oraz funkcjonalnej redundancji mikrobiomu stanowi istotny i świeży wkład w naukę. Dodatkowo, rozprawę cechuje **dojrzałość badawcza i warsztatowa**. Autorka wykazała się biegłością w stosowaniu narzędzi bioinformatycznych i statystycznych, a cała rozprawa jest spójna, logicznie skonstruowana i przygotowana z bardzo wysoką dbałością o stronę redakcyjną.

27 lutego 2026 r.

.....
data sporządzenia recenzji

.....
podpis recenzenta