

Załącznik 2

**Autoreferat przedstawiający opis osiągnięcia wynikającego
z art. 16 ust. 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r.
o stopniach naukowych i tytule naukowym
oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki
(Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)
oraz pozostałe zainteresowania i osiągnięcia naukowe**

1. Imię i nazwisko:

Artur Działuk

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania:

Magister – kierunek: biologia, specjalność: biologia molekularna, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika, Wydział Biologii i Nauk i Ziemi, Toruń, 1998.

Doktor – dyscyplina: biologia, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Biologii, Poznań, 2004 (tytuł dysertacji: „Przepływ genów w drzewostanie nasiennym sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris* (L.).”)

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

1998-1999 – starszy technik (Wyższa Szkoła Pedagogiczna w Bydgoszczy, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska)

1999-2004 – asystent (Wyższa Szkoła Pedagogiczna w Bydgoszczy / Akademia Bydgoska im. Kazimierza Wielkiego, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska)

2004-obecnie – adiunkt (Akademia Bydgoska im. Kazimierza Wielkiego / Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej)

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego:

Cykl siedmiu publikacji pod tytułem: „**Struktura genetyczna i ochrona zasobów genowych roślin drzewiastych występujących na terenach górskich**”

- [1] **Działuk A**, Burczyk J (2004) PCR-multiplex of six chloroplast microsatellites for population studies and genetic typing in *Pinus sylvestris*. *Silvae Genetica* 53:246-248. [IF=0,356]
- [2] **Działuk A**, Muchewicz E, Boratyński A, Montserrat JM, Boratyńska K, Burczyk J (2009) Genetic variation of *Pinus uncinata* (Pinaceae) in Pyrenees determined with cpSSR markers. *Plant Systematics and Evolution* 277:197-205. [IF=1,41]
- [3] **Działuk A**, Mazur M, Boratyńska K, Montserrat JM, Romo A, Boratyński A (2011) Population genetic structure of *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae) in the western Mediterranean Basin: gradient of diversity on a broad geographical scale. *Annals of Forest Science* 68:1341–1350. [IF=1,788]
- [4] **Działuk A**, Boratyński A, Boratyńska K, Burczyk J (2012) Geographic patterns of genetic diversity of *Pinus mugo* (Pinaceae) in Central European mountains. *Dendrobiology* 68: 31-41. [IF=0,447]
- [5] **Działuk A**, Czarnecki J, Gout R, Filipiak M (2013) Pochodzenie jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) z Nadleśnictwa Osusznicza (RDLP Szczecinek) w świetle badań cytoplazmatycznego DNA: Ostoja jodły sudeckiej na Pomorzu? *Sylwan* 157:139-149. [IF=0,295]

- [6] Boratyńska K, **Działuk A**, Lewandowski A, Marcysiak K, Jasińska AK, Sobierajska K, Tomaszewski D, Burczyk J, Boratyński A (2014) Geographic distribution of quantitative traits variation and genetic variability in natural populations of *Pinus mugo* (Pinaceae) in Central Europe. *Dendrobiology* 72:65-84. [IF₂₀₁₃=0,525]
- [7] **Działuk A**, Chybicki I, Gout R, Mączka T, Fleischer P, Konrad H, Curtu AL, Sofletea N, Valadon A (2014) No reduction in genetic diversity of Swiss stone pine (*Pinus cembra* L.) in Tatra Mountains despite of high fragmentation and small population size: implications for management and conservation of timberline ecotone. *Conservation Genetics* 15:1433-1445. [IF₂₀₁₃=1,846]

Łączna liczba punktów Impact Factor wymienionych publikacji (zgodnie z rokiem publikacji) wynosi 6,67.

- b) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wstęp

Bioróżnorodność na naszej planecie została w znacznym stopniu zubożona w wyniku bezpośredniego i pośredniego oddziaływania człowieka. Wiele gatunków już wyginęło a wiele innych znajduje się aktualnie na krawędzi wyginięcia. Znaczna liczba gatunków wymaga pilnej interwencji ze strony człowieka.

Międzynarodowa Unia Ochrony Przyrody i Zasobów Naturalnych (IUCN) zaleca ochronę bioróżnorodności na trzech poziomach: zmienności genetycznej, gatunków oraz ekosystemów (McNeely i in. 1990). Z uwagi na fakt, że na wszystkich poziomach aspekt genetyczny odgrywa istotną rolę (Frankham i in. 2010), zintegrowane wykorzystanie wiedzy genetycznej w celach ochroniarskich, znalazło wyraz w narodzinach genetyki konserwatorskiej. Chociaż zastosowanie metod oraz teorii z zakresu genetyki populacyjnej oraz genetyki ewolucyjnej w odniesieniu do działalności konserwatorskiej ma długie tradycje (Frankel i Soule 1980; Schonewald-Cox i in. 1983), to formalne narodziny genetyki konserwatorskiej, nastąpiły stosunkowo niedawno, wraz z założeniem w roku 2000 czasopisma *Conservation Genetics* oraz publikacją w roku 2002 pierwszej książki o tej tematyce (Frankham i in. 2002). Stąd też genetyka konserwatorska wciąż uznawana jest za młodą dziedzinę wiedzy (Primmer 2009). Genetyka konserwatorska zajmuje się czynnikami genetycznymi, które wpływają na ryzyko wyginięcia, stara się również tak zarządzać zasobami genowymi, aby wpływać na procesy ewolucyjne i w ten sposób zwiększać prawdopodobieństwo przetrwania gatunków. W kręgu jej zainteresowań są m.in. takie procesy jak: utrata zmienności genetycznej i zdolności do ewolucji w odpowiedzi na zmiany środowiskowe, fragmentacja populacji i ograniczenia przepływu genów, dryf genetyczny oraz określanie jednostek zarządzania (ang. management units), które będą podlegały zabiegom ochroniarskim w obrębie zagrożonego gatunku (Frankham i in. 2002). Coraz częściej postuluje się konstruowanie programów ochrony zasobów genowych w oparciu zarówno o badania zmienności genetycznej jak i zmienności fenotypowej (morfologicznej, fizjologicznej czy behawioralnej), które umożliwiają określenie zdolności adaptacyjnej gatunku czy populacji w odpowiedzi na zmiany środowiskowe. Potencjał adaptacyjny

rozumiany jest jako zdolność gatunku/populacji do odpowiedzi na selekcję poprzez zmiany fenotypowe lub molekularne.

Gatunki charakteryzujące się małym zasięgiem występowania, tworzące populacje o małej gęstości i dużym stopniu izolacji są potencjalnie bardziej zagrożone wyginięciem niż te, o szerokim zasięgu, dużej gęstości i małej izolacji. Badania wskazują, że wiele roślin endemicznych i takich o małym zasięgu występowania charakteryzują się niższą zmiennością genetyczną niż gatunki występujące powszechnie. Obniżona zmienność genetyczna ogranicza ich zdolności adaptacyjne do zmiennych warunków środowiskowych (Rymer i Ayre 2006). Obecnie głównymi czynnikami sprzyjającymi wymieraniu gatunków są czynniki związane z działalnością człowieka, które powodują zmniejszenie wielkości populacji do rozmiaru, w którym są one podatne na procesy stochastyczne. Obejmują one procesy losowe zarówno o charakterze środowiskowym, demograficznym jak i genetycznym (depresja wsobna i utrata zmienności genetycznej). Powyższe procesy działając synergistycznie, napędzają tzw. wir wymierania (ang. extinction vortex). Niestety, nawet jeśli pierwotna przyczyna spadku liczebności populacji ustąpi, problemy wywołane przez małą wielkość populacji będą trwałe. W małych populacjach rośnie ryzyko wsobności i dryfu genetycznego, które szybko obniżają potencjał adaptacyjny gatunku (Saccheri i in. 1998; Tanaka 2000; O'Grady i in. 2006). Jeśli fragmentacja trwa długo i obejmuje kolejne pokolenia, dryf genetyczny i wsobność mogą obniżyć heterozygotyczność a utrwalanie alleli szkodliwych może obniżać zdolności reprodukcyjne i zwiększać ryzyko wyginięcia (Frankham 2005; Kramer i Havens 2009). Drzewa leśne dzięki wiatropylności i długowieczności są w mniejszym stopniu zagrożone obniżeniem potencjału adaptacyjnego na skutek fragmentacji środowiska i występowania w małych populacjach (Hamrick i in. 1992). Wiele gatunków drzew występując na znacznym obszarze, charakteryzuje się jednak nieciągłym zasięgiem występowania. U takich gatunków może powstawać charakterystyczna struktura genetyczna. Stwierdzono, że u drzew leśnych zarówno zmienność o charakterze neutralnym jak i adaptacyjnym charakteryzuje się strukturą przestrzenną (Petit i in. 2003; Savolainen i in. 2007; Aitken i in. 2008). Stąd, wszelkie zabiegi ochroniarskie muszą być prowadzone w dużej skali geograficznej (Lefevre i in. 2012).

Ekosystemy górskie mają znaczenie globalne, bowiem charakteryzują się ogromną bioróżnorodnością. Dla ochrony ich unikalności zakłada się liczne parki narodowe lub rezerwaty. Obecnie jedna trzecia obszarów chronionych znajduje się w górach. Lasy górskie pełnią wiele funkcji produkcyjnych, ochronnych, kulturowych (Price i Butt 2000). Niestety, są one również bardzo wrażliwe na globalne zmiany środowiskowe. Rośliny górskie są przystosowane do wąskiego zakresu temperatur i opadów panujących aktualnie w ich środowisku występowania (Körner 2003). Są zatem szczególnie zagrożone procesem globalnego ocieplenia (Thuiller i in. 2005; Nogues-Bravo i in. 2007). Ma to ogromne znaczenie wobec prognozowanego w XXI-wieku dalszego ocieplania klimatu (Nogues-Bravo i in. 2007). Głównym sposobem odpowiedzi gatunków górskich na wzrost temperatur będzie ucieczka w wyższe partie gór, w poszukiwaniu odpowiednich nisz klimatycznych (Gottfried i in. 2012; Pauli i in. 2012). Niestety, wiele gatunków może nie odnaleźć sprzyjających warunków lub przegra konkurencję z gatunkami już tam występującymi (Pauli i in. 2003; Körner, 2007; Larsen i in. 2011). Ryzyko wyginięcia będzie niższe u gatunków o dużym potencjale adaptacyjnym warunkowanym wysokim poziomem zmienności, plastycznością

fenotypową i dużymi zdolnościami dyspersji. Wiedza na temat potencjału adaptacyjnego gatunków górskich jest zatem niezbędna by oszacować ryzyko wyginięcia gatunków czy populacji oraz przygotować odpowiednie programy ochrony.

Niestety, ochrona zasobów genowych gatunków roślin występujących w Europie na terenach górskich jest trudnym wyzwaniem. Wymaga ona opracowania strategii a następnie skoordynowanego działania na obszarze całego zasięgu występowania gatunku. Niestety, z uwagi na występowanie pasm górskich w wielu krajach europejskich, ochrona leśnych zasobów genowych stanowi poważne wyzwanie metodologiczne i polityczne. W warunkach europejskich, skuteczna ochrona puli genowej roślin górskich wymaga współpracy ponad granicami państw.

Cel prac składających się na osiągnięcie naukowe

Celem prac składających się na osiągnięcie naukowe było określenie struktury genetycznej roślin drzewiastych występujących na terenach górskich oraz wskazanie populacji o najwyższym priorytecie dla programów konserwatorskich. Wartościowania przydatności populacji do ochrony puli genowych gatunków dokonano na podstawie analizy poziomu zmienności genetycznej oraz zróżnicowania genetycznego. Założono, że gatunki zasiedlające różne pasma górskie, mogły być izolowane przestrzennie przez tysiąclecia, przez co charakteryzują się obecnie odmienną historią i potencjałem adaptacyjnym.

Do badań wybrano pięć gatunków: kosodrzewinę (*Pinus mugo*), sosnę hakowatą (*Pinus uncinata*), limbę (*Pinus cembra*), jodłę pospolitą (*Abies alba*) oraz jałowiec fenicki (*Juniperus phoenicea*). Badania przeprowadzono w dużej skali geograficznej, obejmującej systemy górskie Europy (Pireneje, Alpy, Karpaty, Sudety) oraz Afryki (Atlas). W tym celu nawiązano szeroką współpracę międzynarodową z instytucjami naukowymi z Ukrainy, Słowacji, Austrii, Rumunii, Francji oraz Hiszpanii, których przedstawiciele są współautorami cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe. Wybrane gatunki roślin drzewiastych są organizmami długożyjącymi, których możliwości adaptacyjne do szybko zmieniających się warunków klimatycznych są ograniczone z powodu długiego okresu przemiany pokoleń. Dodatkowo, są to organizmy, które przedstawiają kontrastujące przykłady zagrożenia wyginięciem, przez co różnią się również stosowaną obecnie formą ochrony. Spośród nich, populacje kosodrzewiny, sosny hakowatej oraz jałowca fenickiego są obecnie relatywnie najliczniejsze i najmniej zagrożone. Z kolei przyszłość limby w Tatrach, która występuje w liczbie zaledwie ok. 12 000 osobników, jest wciąż niepewna. Największe obawy budzi jednak sytuacja jodły pospolitej w Sudetach, gdzie jest ona zagrożona całkowitym wyginięciem. W związku z przewidywanym dalszym ocieplaniem klimatu, które w najwyższym stopniu dotyka ekosystemy górskie, wszystkie badane gatunki roślin drzewiastych wymagają opracowania i wdrożenia programów ochrony zasobów genowych. Niestety, jak dotąd, nasza wiedza dotycząca potencjału ewolucyjnego tych gatunków jest niewielka.

Omówienie prac składających się na osiągnięcie naukowe

[1] **Działuk A**, Burczyk J (2004) PCR-multiplex of six chloroplast microsatellites for population studies and genetic typing in *Pinus sylvestris*. *Silvae Genetica* 53:246-248.

Mała liczba markerów genetycznych stosowana w badaniach populacyjnych nie pozwala na precyzyjne określenie poziomu zmienności genetycznej ani potencjału ewolucyjnego gatunku. Tym samym, uzyskane informacje mają relatywnie niewielkie znaczenie dla opracowania programów ochrony zasobów genowych. W ostatniej dekadzie XX wieku, dwa niezależne zespoły naukowców opublikowały sekwencje starterów dla reakcji PCR, umożliwiającą amplifikację sekwencji mikrosatelitarnych w chloroplastowym DNA (cpSSR) sosny zwyczajnej (Vendramin i in. 1996; Provan i in. 1998). Z uwagi na konserwatywność genomu chloroplastowego i względnie łatwy transfer opracowanych starterów do innych gatunków drzew iglastych, mikrosatelity chloroplastowe szybko stały się narzędziem powszechnie stosowanym w badaniach populacyjnych drzew leśnych. Niestety, z uwagi na wysokie koszty PCR oraz badań produktów tej reakcji, analiza wielu loci cpSSR nie znajdowała uzasadnienia ekonomicznego. Stąd, w większości prac opublikowanych na przełomie XX i XXI wieku, autorzy wykorzystywali zaledwie niewielką liczbę z dostępnych loci cpSSR, amplifikując je w pojedynczych reakcjach PCR (jeden locus cpSSR /reakcja). Względny ekonomiczny powodowały zatem, że część informacji o zmienności genetycznej markerów cpSSR, nie była wykorzystywana.

W związku z planowanymi badaniami sosny hakowatej oraz kosodrzewiny wymagającymi analiz znacznej liczby prób, w pracy [1] podjęto próbę opracowania reakcji, która umożliwiłaby amplifikację jak największej liczby loci podczas pojedynczej reakcji PCR (reakcja multiplex PCR). W ten sposób możliwe byłoby obniżenie nie tylko kosztów ale i skrócenie czasu analiz dużej liczby prób. W wyniku serii prób optymalizacji reakcji PCR, zaprojektowano mieszaninę reakcyjną oraz profil termiczny, umożliwiający jednoczesną amplifikację sześciu loci cpSSR w czasie jednej reakcji. Dodatkowe oszczędności wynikały z zastosowania starterów do reakcji PCR znakowanych fluorescencyjnie. Umożliwiło to analizę uzyskanych profili genetycznych na automatycznym analizatorze DNA (ABI PRISM 310). Skuteczność nowej metody genotypowania loci cpSSR, zaproponowanej w niniejszej pracy przetestowano na DNA izolowanym trzema metodami: zestawem DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), metodą Dellaporta i in. (1983) oraz metodą Doyle i Doyle (1990). Okazało się, że zastosowanie surowiczej albuminy wołowej (BSA od ang. Bovine Serum Albumin) w stężeniu wyższym niż podawano dotychczas w literaturze, gwarantowało pełną skuteczność zaproponowanej reakcji multiplex PCR, niezależnie od metody użytej do izolacji DNA. Podobnie, wysoka użyteczność opracowanej metody amplifikacji sześciu loci cpSSR została potwierdzona na DNA izolowanym z różnych tkanek sosny zwyczajnej (zarodek, megagametofit, igły). O uniwersalności opracowanej metody świadczy również fakt, że może być ona stosowana na urządzeniach nie mających możliwości detekcji produktów PCR znakowanych wieloma barwnikami fluorescencyjnymi. W przypadku stosowania wielobarwnikowych analizatorów DNA możliwe jest także zwiększenie liczby loci cpSSR analizowanych w reakcji multiplex PCR. Wskazówki dotyczące procesu optymalizacji reakcji multiplex PCR umieszczono w niniejszej pracy, zwracając szczególną uwagę na

niebezpieczeństwo amplifikacji tych samych loci cpSSR wykorzystując jednocześnie startery opracowane przez Vendramina i in. (1996) oraz Provana i in. (1998).

W niniejszej pracy udowodniono, że podobnie jak u innych organizmów (mikroorganizmów, zbóż czy zwierząt), jednoczesna amplifikacja loci mikrosatelitarnych u sosny zwyczajnej jest możliwa. Przynosi ona wymierne korzyści finansowe i skraca czas analiz w przypadku badań dużej liczby prób. Opracowana metoda badawcza, po niezbędnych modyfikacjach, została wykorzystana w badaniach sosny hakowatej [praca 2], kosodrzewiny [praca 4, 6] oraz częściowo jodły pospolitej [praca 5]. Pod moją opieką naukową, jest ona również wykorzystywana przez Pracownię Analiz DNA w Leśnym Banku Kostrzyca podczas realizacji zadania: Wykorzystanie sekwencji mikrosatelitarnych chloroplastowego DNA do badań genetycznych nasion sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris* L., zdeponowanych jako zasoby genowe w Leśnym Banku Genów Kostrzyca.

[2] **Działuk A**, Muchewicz E, Boratyński A, Montserrat JM, Boratyńska K, Burczyk J (2009) Genetic variation of *Pinus uncinata* (Pinaceae) in Pyrenees determined with cpSSR markers. *Plant Systematics and Evolution* 277:197-205.

Praca [2] dotyczy struktury genetycznej populacji sosny hakowatej (*Pinus uncinata*). Gatunek ten występuje w dwóch głównych centrach: Pirenejach i Zachodnich Alpach oraz w postaci izolowanych skupisk w Sierra de Gudar, Sierra Cebolera, Masywie Centralnym, Jurze i Wogezach. W małych, izolowanych geograficznie populacjach, pula genowa gatunku kształtowana jest w znacznej mierze przez ograniczony przepływ genów, dryf genetyczny i mutacje, sprzyjając zróżnicowaniu genetycznemu. Tymczasem, dotychczasowe wyniki badań izoenzymowych (Lewandowski i in. 2000), morfologicznych (Marcysiak 2004; Boratyńska i Bobowicz 2000, 2001; Boratyńska i Boratyński 2007) i DNA (Monteleone i in. 2006) wskazywały na niewielkie lub wręcz brak zróżnicowania u *Pinus uncinata*. Stąd, głównym celem pracy [2] było poznanie poziomu i rozkładu zmienności wewnątrz i między populacjami. Badania struktury genetycznej przeprowadzono w populacjach reprezentujących centrum zasięgu (9 populacji z Pirenejów i Alp) oraz w czterech populacjach marginalnych. Założono, że najbardziej południowe populacje, z uwagi na izolację geograficzną, będą różniły się poziomem zmienności genetycznej oraz wysokim zróżnicowaniem. W badaniach wykorzystano zmodyfikowaną reakcję multipleks PCR dziesięciu sekwencji mikrosatelitarnych w DNA chloroplastowym, opublikowaną w pracy [1]. Stwierdzono bardzo wysoki poziom zmienności genetycznej we wszystkich badanych populacjach ($H_e=0,99$), za wyjątkiem Sierra de Gudar ($H_e=0,83$), której pula genowa jest najuboższa i charakteryzuje się występowaniem największej liczby alleli prywatnych. Potwierdzono niskie, lecz istotne statystycznie zróżnicowanie genetyczne pomiędzy badanymi populacjami (7,21%). Tak niewielkie zróżnicowanie populacji sosny hakowatej na poziomie sekwencji mikrosatelitarnych w DNA chloroplastowym może być efektem intensywnego przepływu genów, efektu homoplazji i/lub niedawnej fragmentacji większej populacji. Cechą charakterystyczną tego gatunku jest występowanie struktury filogeograficznej, co oznacza, że mutacje przyczyniły się w istotnym stopniu do obserwowanego poziomu zróżnicowania. Chociaż nie stwierdzono występowania izolacji przestrzennej (test Mantela nieistotny statystycznie), trzy populacje marginalne z Sierra de Gudar, Sierra Cebolera oraz Masywu Centralnego, charakteryzowały się najwyższą

odmiennością genetyczną w stosunku do pozostałych populacji, potwierdzając tym samym swą odmienną historię ewolucyjną, przynajmniej od okresu ostatniego zlodowacenia. Uzyskane wyniki wskazują na występowanie dwóch odmiennych pul genowych sosny hakowatej: pirenejskiej oraz alpejskiej. Ich spotkanie nastąpiło prawdopodobnie na terenie Masywu Centralnego, którego część północna została zasiedlona przez osobniki z Pirenejów a część południowa powstała prawdopodobnie przy udziale osobników z Alp Nadmorskich. Wyniki niniejszych badań mają istotne znaczenie dla opracowania programu ochrony zasobów genowych *Pinus uncinata*, który powinien uwzględniać istnienie dwóch podstawowych jednostek ochrony/uprawy sosny hakowatej (Pireneje i Alpy). Z kolei reliktowe populacje z Sierra de Gudar, oraz Sierra Cebolera, z uwagi na swą odmienność genetyczną i izolację przestrzenną wymagają osobnych zabiegów konserwatorskich.

[3] **Działuk A**, Mazur M, Boratyńska K, Montserrat JM, Romo A, Boratyński A (2011) Population genetic structure of *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae) in the western Mediterranean Basin: gradient of diversity on a broad geographical scale. *Annals of Forest Science* 68:1341–1350.

Praca [3] dotyczy struktury genetycznej populacji jałowca fenickiego (*Juniperus phoenicea*). Gatunek ten występuje w Śródziemnomorzu w postaci dwóch podgatunków (subsp. *phoenicea* i subsp. *turbinata*). Obszar wokół morza Śródziemnego stanowi refugium plejstoceny dla szeregu gatunków, jest skrzyżowaniem dróg migracji roślin i stanowi centrum specjacji. Jak dotąd, zmienność genetyczna jałowca fenickiego była badana niezwykle rzadko. Stąd, głównym celem tych badań było określenie poziomu zmienności oraz analiza struktury genetycznej w dużej skali geograficznej. Badania przeprowadzono w zachodniej części Śródziemnomorza, czyli w centrum występowania jałowca fenickiego. Wykorzystano markery RAPD do analizy populacji reprezentujących oba podgatunki (odpowiednio 6 i 4 populacje). Z uwagi na szereg znanych wad użytych markerów genetycznych, zastosowano zaawansowane techniki analizy statystycznej. Wykazano, że poziom zróżnicowania genetycznego jałowca fenickiego ($G_{ST}=0,056$; $\Phi_{ST}=0,106$) jest podobny do gatunków iglastych. Chociaż różnice pomiędzy podgatunkami stanowią zaledwie 3,14% całkowitej zmienności gatunku, to wydzielały się one wyraźnie zarówno na dendrogramie opartym na dystansie Nei'a jak i w analizie PCoA. Poziom zmienności genetycznej wykazywał zmienność gradientową. Stwierdzono pozytywną korelację heterozygotyczności oczekiwanej z szerokością geograficzną ($\tau=0.556$) oraz negatywną z wysokością ($\tau=-0.494$). Chociaż nie stwierdzono występowania struktury przestrzennej (test Mantela nieistotny statystycznie), to wykazano istnienie dwóch pul genowych jałowca fenickiego, co odpowiada występowaniu obu podgatunków. AMOVA wykazała jednak, że geografia (Europa vs. Afryka; $\Phi_{ST}=0,0397$) ma silniejszy wpływ na rozkład zmienności między grupami populacji niż filogeneza (subsp. *phoenicea* vs. subsp. *turbinata*; $\Phi_{ST}=0,0314$). W kształtowaniu poziomu zmienności oraz zróżnicowania w obrębie badanego gatunku istotną rolę odegrało otwarcie Cieśniny Gibraltarskiej, które utrudniło przepływ genów pomiędzy populacjami na obu kontynentach. Dodatkowo, różne tempo mutacji mogło pogłębić zróżnicowanie pomiędzy populacjami europejskimi a afrykańskimi. Wyniki niniejszych badań mają istotne znaczenie dla ochrony puli genowej gatunku, który charakteryzuje się bardzo szerokim zasięgiem występowania. Chociaż badano jedynie zachodnią część zasięgu, widać wyraźnie, że w obrębie gatunku można wyróżnić dwie strefy

genetyczne. Oznacza to, że wszelkie zabiegi ochroniarskie powinny opierać się na materiale lokalnym bez sprowadzania nasion z odległych populacji. Dotyczy to zarówno wymiany nasion pomiędzy populacjami z różnych kontynentów jak i populacjami reprezentującymi różne podgatunki. Z uwagi na fakt, że zmiany klimatyczne w znacznym stopniu dotyczą gatunki śródziemnomorskie, wyniki badań struktury genetycznej jałowca fenickiego mogą mieć również duże znaczenie dla ochrony i zarządzania zasobami genowymi innych gatunków Basenu Morza Śródziemnego.

[4] **Działuk A**, Boratyński A, Boratyńska K, Burczyk J (2012) Geographic patterns of genetic diversity of *Pinus mugo* (Pinaceae) in Central European mountains. *Dendrobiology* 68: 31-41.

Praca [4] dotyczy struktury genetycznej kosodrzewiny (*Pinus mugo*). Gatunek ten występuje w masywach górskich Europy Środkowej i Południowej. Jego zasięg występowania podzielony jest obecnie na szereg izolowanych geograficznie centrów i według Sandoza (1983) stanowi pozostałości po znacznie szerszym zasięgu występującym w późnym Trzeciorzędzie oraz podczas okresów interglacjalnych w Czwartorzędzie. Niewiele wiadomo na temat poziomu zmienności i struktury genetycznej tego gatunku w Europie Centralnej, gdyż dotychczasowe badania genetyczne koncentrowały się na innych zagadnieniach. Stąd, celem niniejszej pracy było poznanie zmienności haplotypowej i zróżnicowania genetycznego dwunastu naturalnych populacji *Pinus mugo*, występujących w trzech pasmach górskich Europy Centralnej: Alpach, Karkonoszach oraz Tatrach. W pracy wykorzystano reakcję multipleks PCR dziesięciu loci cpSSR opracowaną w pracy [1] a następnie zmodyfikowaną w pracy [2]. Poziom zmienności genetycznej *Pinus mugo* na badanym terenie był wysoki ($H_e=0,97$) i porównywalny z innymi gatunkami sosen rosnących w górach czy w Basenie Morza Śródziemnego. Głównym wynikiem tej pracy było wykazanie, że czynnik geograficzny (lokalizacja w systemach górskich) jest główną determinantą struktury genetycznej nie tylko w zachodniej części zasięgu występowania kompleksu *Pinus mugo* (t.j. *Pinus uncinata*, co stwierdzono w pracy [2]), ale także *Pinus mugo* w Europie Centralnej. Stwierdzono zatem wspólny wzorzec struktury genetycznej, typowy dla gatunków z kompleksu *Pinus mugo*, będący efektem fragmentacji dużej populacji historycznej. Populacje z Alp, Tatr i Karkonoszy wykazywały istotne zróżnicowanie genetyczne, przy czym różnice pomiędzy populacjami w ramach pasm górskich były niewielkie. Wysokie wartości dystansu genetycznego sugerują brak wymiany genów pomiędzy tymi lokalizacjami. Oznacza to, że gatunek przetrwał ostatnie zlodowacenie w różnych refugiach (Sudety, Karpaty i Alpy), bez kontaktu lub przy bardzo ograniczonym przepływie genów pomiędzy nimi. Obserwowana struktura genetyczna może być efektem fragmentacji dużej populacji ancestralnej i długiego okresu skutecznej izolacji gatunku w trzech pasmach górskich. Doprowadziło to, do powstania trzech wyraźnie odmiennych pul genowych w Europie Centralnej. Różnice pomiędzy *Pinus mugo* z Tatr i Karkonoszy są najmniejsze w tych badaniach, co może sugerować, że istniała łączność pomiędzy tymi lokalizacjami w okresach interglacjalnych. Z uwagi na brak dowodów kopalnych, ta hipoteza wymaga jednak dalszej weryfikacji.

Uzyskane wyniki mają istotne znaczenie dla programów ochrony zasobów genowych *Pinus mugo* w Europie Centralnej, bowiem wskazują, że muszą się one koncentrować w

obrębie poszczególnych pasm górskich. Populacje z Alp, Tatr i Karkonoszy powinny być traktowane jako odrębne jednostki ochrony/uprawy.

[5] **Działuk A**, Czarnecki J, Gout R, Filipiak M (2013) Pochodzenie jodły pospolitej (*Abies alba* Mill.) z Nadleśnictwa Osusznica (RDLP Szczecinek) w świetle badań cytoplazmatycznego DNA: Ostoja jodły sudeckiej na Pomorzu? *Sylwan* 157:139-149.

W pracy [5] wykorzystano analizy struktury genetycznej populacji jodły pospolitej w Polsce i na Ukrainie w celu wsparcia programu ochrony zasobów genowych. Od ponad dwustu lat obserwuje się stopniowe zamieranie jodły pospolitej w Europie. W Polsce, obszarem najbardziej zagrożonym całkowitym wyginięciem jodły są Sudety. Aby temu zapobiec Lasy Państwowe oraz sudeckie parki narodowe realizują programy restytucji tego gatunku. Niestety zasoby genowe tego drzewa są już tak ubogie (zaledwie ok. 30 000 drzew w wieku powyżej 50 lat), że nie gwarantują przetrwania gatunku na tych terenach (Filipiak 2006). Z tego powodu, coraz częściej dyskutowana jest np. możliwość wykorzystania jodły obcego pochodzenia. Najczęściej postuluje się wprowadzenie jodły karpackiej (Gunia 1986; Skrzyszewska 1999, 2006), pomimo tego, że jej odrębność genetyczna została potwierdzona wielokrotnie. Tymczasem, w północno-zachodniej części Polski znajdują się stanowiska jodły poza granicami jej naturalnego występowania, które charakteryzują się doskonałą kondycją. W Nadleśnictwie Osusznica (RDLP Szczecinek) istnieją nawet dwa wyłączone drzewostany nasienne (WDN) odnawiające się naturalnie. Niestety, z uwagi na ich występowanie ok. 200 km od granicy zasięgu naturalnego, charakter antropogeniczny oraz nieznanego pochodzenia nasion użytych do wysiewu, coraz częściej pojawiają się głosy o konieczności usunięcia jodły z Pomorza, jako elementu obcego na tych terenach. Celem pracy [5] było porównanie zmienności genetycznej w DNA chloroplastowym trzynastu populacji jodły (naturalnych i sztucznych) i na tej podstawie ustalenie pochodzenia nasion użytych do zalesień w Nadleśnictwie Osusznica. Przyjęto, że sztuczne i izolowane populacje jodły na Pomorzu mogą charakteryzować się obniżoną zmiennością na skutek efektu założyciela i dryfu genetycznego. Dodatkowo, aby wstępnie oszacować odległość transferu nasion użytych do założenia populacji w Nadl. Osusznica, wykorzystano analizy mitochondrialnego DNA (mtDNA), które pozwalają na rozróżnienie jodeł pochodzących z refugium bałkańskiego oraz apenińskiego (Gömöry i in. 2004). Wyniki badań genetycznych wykazały, że nasiona użyte do wysiewu w Nadleśnictwie Osusznica pochodziły z terenów Europy środkowej i/lub zachodniej (refugium apenińskie). Jednocześnie wykluczono możliwość dalekiego transportu nasion z Europy południowo-wschodniej i Bałkanów. Najbardziej prawdopodobnym ich źródłem są Sudety, które nie stanowią jednak jednolitej genetycznie grupy populacji. Dotychczas uważano, że w odróżnieniu od świerka, jodła w Sudetach ma charakter autochtoniczny. Takie twierdzenie znajdowało potwierdzenie w wielu badaniach. Wyniki niniejszych analiz wskazują jednak, że przynajmniej w rejonie Nadleśnictwa Zdroje, wprowadzano jodłę obcego pochodzenia. Oznacza to, że antropopresja w znacznie większym stopniu niż dotychczas przypuszczano, ukształtowała strukturę genetyczną jodły w Sudetach. Podobnie, niejednorodną genetycznie grupą okazała się jodła w Nadleśnictwie Osusznica. Jodła z części zachodniej nadleśnictwa charakteryzuje się wysoką zmiennością genetyczną, podczas gdy część wschodnia należy do populacji o najniższej zmienności. Obserwowany kontrast zmienności genetycznej znajduje potwierdzenie w dużych różnicach w strukturze wiekowej drzewostanów w obu częściach nadleśnictwa i bez wątplenia ma

źródło antropogeniczne. Uzyskane wyniki badań mogą mieć donośne znaczenie dla przyszłości jodły zarówno na Pomorzu jak i w Sudetach. W związku z utratą naturalnych zdolności odbudowy drzewostanów jodłowych w Sudetach, populacja z części zachodniej Nadleśnictwa Osusznica (w tym oba WDNy) może być traktowana jako archiwum zasobów genowych jodły sudeckiej, której wykorzystanie może przyczynić się do zatrzymania procesu erozji genetycznej. Z kolei jodły z Pomorza, mogą odegrać istotną rolę w zwiększeniu różnorodności gatunkowej naszych lasów, wzbogacić pulę genową i rozproszyć ryzyko hodowlane jodły w Polsce.

Badania te zostały zainspirowane przez polskich leśników, zgłaszających pilną potrzebę dostarczenia naukowych argumentów w toczącej się dyskusji nad losem gatunków drzew leśnych wstępujących poza granicami naturalnego występowania. Z uwagi na lokalny charakter i konieczność rozwiązania tego problemu w skali całego kraju, wyniki badań zostały opublikowane w języku polskim, w czasopiśmie *Sylvan*.

[6] Boratyńska K, **Działuk A**, Lewandowski A, Marcysiak K, Jasińska AK, Sobierajska K, Tomaszewski D, Burczyk J, Boratyński A (2014) Geographic distribution of quantitative traits variation and genetic variability in natural populations of *Pinus mugo* (Pinaceae) in Central Europe. *Dendrobiology* 72:65-84.

Praca [6] stanowi kontynuację badań nad zmiennością i zróżnicowaniem *Pinus mugo* w Europie Centralnej. W pracach [2] oraz [4] wykazano występowanie wspólnego wzorca struktury genetycznej, typowej dla gatunków sosen górskich. Jest ona efektem fragmentacji dużej populacji ancestralnej oraz długotrwałej izolacji geograficznej skutkującej wysokim zróżnicowaniem pomiędzy pasmami górskimi. Celem pracy [6] było sprawdzenie czy czynnik geograficzny w równym stopniu determinuje strukturę populacji obserwowaną u *Pinus mugo* w Europie Centralnej zarówno na poziomie fenotypowym jaki i genetycznym. W tym celu przeprowadzono badania w 11 populacjach tego gatunku z Alp, Tatr oraz Karkonoszy. Przeprowadzono analizy 17 cech morfologicznych igieł i 15 cech morfologicznych szyszek oraz 19 loci izoenzymowych. Dodatkowo, w celu wykonania identycznych analiz statystycznych dla wszystkich danych, przeprowadzono reanalizę danych uzyskanych w pracy [4]. Analizy izoenzymowe wykazały, że poziom zmienności genetycznej w badanych populacjach jest wysoki, podobny lub nawet nieco wyższy niż w innych badaniach tego gatunku. Może to wynikać z faktu, że badania przeprowadzono w trzech różnych obszarach refugialnych, które przez długi okres czasu były izolowane. W Alpach zaobserwowano wyższą zmienność genetyczną niż w innych systemach górskich, co zgodne jest z wcześniejszymi obserwacjami (Sannikov i in 2011). Taki rozkład zmienności znany jest z teorii migracji polodowcowej jako „południowe bogactwo do północnego ubóstwa” (ang. „southern richness to northern purity” (Hewitt 2000)). Z kolei poziom zmienności cech morfologicznych igieł i szyszek nie różnił się istotnie pomiędzy badanymi populacjami. Stwierdzono również słabą korelację pomiędzy cechami fenotypowymi a warunkami klimatycznymi. Z uwagi na fakt, że różnice w warunkach klimatycznych w badanych górach nie są wysokie, korelacja tych cech może wynikać głównie z czynnika genetycznego. Za pomocą markerów genetycznych stwierdzono niskie lecz istotne statystycznie zróżnicowanie genetyczne badanych populacji. Analizy AMOVA wykazała, że pomiędzy pasmami górskimi znajduje się odpowiednio 4% i 12% całkowitej zmienności obserwowanej na poziomie izoenzymów i

mikrosatelitów chloroplastowych. Z kolei zróżnicowanie pomiędzy systemami górskimi na poziomie cech morfologicznych było bardzo niskie. Chociaż generalny wzorzec struktury geograficznej *Pinus mugo* w Europie Centralnej znajduje potwierdzenie w wynikach niniejszej pracy, wyniki różnią się w szczegółach w zależności od stosowanych markerów genetycznych. Generalnie mikrosatelity i izoenzymy wyraźnie różnicują regiony górskie. Jednakże cpSSRy wskazują na większe podobieństwo pomiędzy Tatrami i Karkonoszami, a izoenzymy na pokrewieństwo Tatr i Alp. Z kolei cechy morfologiczne zgodnie wskazują na trudności w rozróżnieniu populacji z Alp i Tatr, przy wyraźnie odmiennej puli genowej w Karkonoszach.

Uzyskane wyniki mogą mieć istotne znaczenie dla ochrony i uprawy *Pinus mugo* w Europie Centralnej, bowiem potwierdzają istnienie struktury geograficznej u badanego gatunku. Należy również podkreślić, że z uwagi na specyfikę stosowanych markerów genetycznych, wyniki badań zróżnicowania genetycznego mogą dostarczyć informacji uzupełniających się. Ich interpretacja oraz umiejętne wykorzystanie w konstruowaniu programów ochrony zasobów genowych powinna być przedmiotem szerokiej dyskusji naukowców i praktyków.

[7] **Działuk A**, Chybicki I, Gout R, Mączka T, Fleischer P, Konrad H, Curtu AL, Sofletea N, Valadon A (2014) No reduction in genetic diversity of Swiss stone pine (*Pinus cembra* L.) in Tatra Mountains despite of high fragmentation and small population size: implications for management and conservation of timberline ecotone. *Conservation Genetics* 15:1433-1445.

Praca [7] podejmuje problem poziomu zmienności genetycznej w małych i izolowanych populacjach limby w Tatrach, gdzie ryzyko wyginięcia jest najwyższe w całym zasięgu występowania gatunku. Tatry są najbardziej na północ wysuniętym pasmem górskim, w którym występuje limba. Populacje na skraju zasięgu występowania często charakteryzują się niższą zmiennością genetyczną oraz wyższym zróżnicowaniem. Dodatkowo, liczebność populacji oraz stopień fragmentacji wpływa na szereg procesów genetycznych kształtujących strukturę genetyczną. W małych populacjach, ryzyko podwyższenia poziomu wsobności, dryfu i erozji genetycznej jest wysokie. Z kolei wysoka fragmentacja populacji sprzyja zróżnicowaniu międzypopulacyjnemu. Stąd badania zmienności genetycznej powinny być podstawą wszystkich programów ochrony zasobów genowych. Celem pracy [7] było porównanie struktury genetycznej limby w Tatrach oraz innych częściach Karpat i Alp, a na tej podstawie określenie jednostek ochrony (ang. conservation units), rozumianych jako grupy populacji wymagających odrębnego zarządzania i ochrony z uwagi na odmienną genetyczną. W tym celu przebadano 25 populacji limby z całego zasięgu występowania gatunku, wykorzystując jądrowe sekwencje mikrosatelitarne. Uzyskane wyniki wskazują, że populacje limby w Tatrach charakteryzują się zaskakująco wysokim poziomem zmienności genetycznej, porównywalnym do poziomu obserwowanego w innych częściach zasięgu. Oznacza to, że znacząca fragmentacja populacji wywołana działalnością człowieka, nie wywarła jeszcze negatywnego wpływu na obserwowaną strukturę genetyczną tego gatunku. Istnieje jednak poważne ryzyko, że taki wpływ może ujawnić się dopiero w kolejnych pokoleniach, bowiem limba jest gatunkiem długowiecznym, z długim cyklem reprodukcyjnym. Podobnie, silna fragmentacja populacji limby (szczególnie w Karpatach) nie wpłynęła na poziom zróżnicowania genetycznego pomiędzy populacjami. Wpływ na to mogła mieć stosunkowo niedawna fragmentacja wspólnej puli genowej

zajmującej w przeszłości znacznie większy obszar. Uzyskane wyniki są obiecujące, bowiem wskazują, że tatrzańskie populacje limby nie są zagrożone wyginięciem z powodów genetycznych. Najwyraźniej, pomimo fragmentacji i spadku liczebności populacji do obecnego poziomu ok. 12 000 osobników, dryf genetyczny nie był nigdy znaczącym procesem kształtującym strukturę genetyczną limby w Tatrach. Stąd, jako jedną, wspólną jednostkę ochrony można uznać całą populację limby tatrzańskiej. Nie wszystkie stanowiska tego gatunku charakteryzują się jednak wysoką przydatnością w programie ochrony zasobów genowych. Z programu należałoby wykluczyć najbardziej północną populację limby w Dolinie Białego, bowiem jej udział w zmienności allelicznej jest ujemny a współczynnik pokrewieństwa blisko dwukrotnie wyższy niż średnia w Tatrach.

Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują na konieczność podjęcia skoordynowanej współpracy ponad granicami państw w celu ochrony zasobów genowych limby w Tatrach. Jedynie współpraca pomiędzy Polską i Słowacją daje szansę na zachowanie gatunku w tym regionie. Jednakże, z uwagi na skrajnie niską liczebność (ok. 4 000 dorosłych osobników) i gradację kornika notowaną w ostatnich latach, takie wysiłki mają szczególne znaczenie dla polskich populacji.

Wnioski

Człowiek w istotny sposób przekształcił środowisko górskie. Jego działalność w znacznym stopniu kształtuje także zmienność i strukturę genetyczną roślin występujących na terenach górskich. Badane gatunki roślin drzewiastych występujących na tych terenach zachowały jednak wysoki poziom zmienności genetycznej, pomimo silnej antropopresji. Oznacza to, że posiadają one wysoki potencjał adaptacyjny i podejmowane programy ochrony ich zasobów genowych mają znaczne szanse powodzenia.

Programy ochroniarskie można wspierać pulami genowymi populacji sztucznych, bowiem dzięki działalności człowieka, populacje o istotnym znaczeniu dla ratowania populacji zagrożonych mogą znajdować się dziś daleko poza terenem naturalnego występowania. W przypadku dobrej kondycji, ich pula genowa powinna podlegać szczegółowej ocenie, pod kątem przydatności w programie ochrony zasobów genowych. Doświadczenia proweniencyjne jodły pospolitej prowadzone na Pomorzu dają dziś ewentualną możliwość wzbogacenia puli genowej jodły w Sudetach, która znalazła się na skraju wyginięcia.

W małych i izolowanych populacjach dryf genetyczny nie zawsze kształtuje strukturę genetyczną populacji, czego przykładem jest limba w Tatrach [7]. Dzięki specyficznym właściwościom biologicznym drzew (wiatropylność i długowieczność), wpływ małej wielkości populacji i izolacji przestrzennej na poziom zmienności i strukturę genetyczną może być odłożony w czasie.

U *Pinus mugo* w Europie Centralnej stwierdzono występowanie trzech pul genowych, których zachowanie powinno być celem programów ochrony zasobów genowych. Wydaje się, że struktura geograficzna zaobserwowana w pracach [2], [4] oraz [6] jest cechą całego kompleksu *Pinus mugo*. Należy się zatem spodziewać, że odmienne pule genowe kosodrzewiny będą występowały także w innych pasmach górskich Europy.

W przypadku gatunków o ciągłym zasięgu występowania (np. *Juniperus phoenicea* [3]), istotnym wydaje się unikanie transferu materiału rozmnożeniowego na duże odległości.

Ważnym osiągnięciem, wykraczającym poza cel przedstawionego cyklu prac, było włączenie przez Leśny Bank Genów Kostrzyca opracowanej reakcji multipleks PCR 10 loci mikrosatelitarnych w DNA chloroplastowym do programu ochrony zasobów genowych sosny zwyczajnej. Obecnie wszystkie nasiona sosny zwyczajnej trafiające do LBG Kostrzyca podlegają rygorystycznym testom pod kątem zgodności ich haplotypu z ustalonym wcześniej haplotypem drzewa doborowego. Dodatkowo, prowadzone są analogiczne badania prób nasion przechowywanych już w zasobach banku.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Analizy DNA drzew leśnych na potrzeby wymiaru sprawiedliwości

Wśród pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych, wyróżnić należy działalność związaną z ochroną ośmiu gatunków drzew, dla których w ramach grantu NCBiR oraz NCN opracowano metody udowodnienia kradzieży drewna w oparciu o analizy jądrowych sekwencji mikrosatelitarnych. Od roku 2005, Katedra Genetyki UKW pod moim kierownictwem wykonuje analizy DNA w przypadkach kradzieży i niszczenia drzew. Badania polegają na porównaniu profili genetycznych materiału dowodowego (pnia drzewa, pozostającego po kradzieży w ziemi) z profilami genetycznymi materiału porównawczego, którymi mogą być wszelkie elementy pochodzące z drzewa. Z badań korzystają sądy, policja, prokuratura oraz straż leśna. Przykład wykorzystania takich badań został opisany w publikacji:

Działuk A, Burczyk J. 2005. Examination of chloroplast and nuclear microsatellite DNA sequences for individual identification of coniferous trees. *Problems of Forensic Sciences*, LXIV: 395–400.

Przeptyw genów w populacjach drzew leśnych

Zagadnieniem przepływu genów u sosny zwyczajnej zajmowałem się w swoim doktoracie. Efektem tych zainteresowań była publikacja dwóch prac przeglądowych, które dotyczyły metodyki badań oraz intensywności tego procesu u różnych gatunków drzew:

Działuk A, Burczyk J. 2005. Metody badania przepływu genów u drzew leśnych. *Wiadomości Botaniczne* 49: 1/2: 7-18.

Działuk A, Burczyk J. 2005. Intensywność przepływu genów u drzew leśnych. *Wiadomości Botaniczne* 49: 3/4: 15-27.

Dodatkowo, problemem tym zajmowałem się w trakcie badań dotyczących limby w Tatrach. W pracy Chybicki i **Działuk** (2014), wykazaliśmy, że poziom zapłodnienia krzyżowego u tego gatunku wyniósł 0.72, przy czym był wyższy w populacjach dużych ($t=0.89$) niż w małych ($t=0.51$). Samozapłodnienie i kojarzenie w pokrewieństwie jest kosztem jaki ponosi ten gatunek aby przetrwać w sytuacji niedostatku pyłku. Wyniki zostały opublikowane w pracy:

Chybicki I, **Działuk A.** 2014. Bayesian approach reveals confounding effects of population size and seasonality on outcrossing rates in a fragmented subalpine conifer. *Tree Genetics & Genomes* 10:1723–1737.

Analizy sekwencji mikrosatelitarnych w populacjach drzew leśnych

Przeglądu dostępnych typów markerów genetycznych do badań populacyjnych drzew dokonałem w pracy Działuk i Burczyk 2001, jeszcze przed doktoratem:

Działuk A, Burczyk J. 2001. Molekularne markery DNA jako narzędzie badawcze genetyki drzew leśnych. *Sylvan* 8: 76-83.

Sekwencje mikrosatelitarne u drzew leśnych stały się dostępne do badań populacyjnych na przełomie XX i XXI wieku. Wraz z rosnącym wykorzystaniem pojawiały się problemy z wysokimi kosztami analiz. W pracy Działuk i in. 2005, przedstawiono reakcję multipleks PCR, która pozwalała na jednoczesną ampifikację wielu loci. W czasie publikacji tej pracy, wykorzystanie reakcji multipleks PCR do analiz populacyjnych drzew było ogromną rzadkością a dziś jest procedurą standardową.

Działuk A, Chybicki I, Burczyk J. 2005. PCR-multiplexing of nuclear SSR loci in *Quercus* sp. *Plant Molecular Biology Reporter* 23: 121-128.

Wyrazem zainteresowania technicznymi możliwościami, które dawał nowy typ markerów genetycznych (mikrosatelitów) był artykuł o wykryciu osobników triploidalnych u dębu szypułkowego i bezszypułkowego. Do czasu publikacji pracy Działuk i in. 2007 pojawienie się nietypowego profilu genetycznego SSR o wielu produktach w każdym locus, traktowane było jako błąd w genotypowaniu. W tej pracy udowodniono, że markery SSR mogą być skutecznym narzędziem do wykrywania aberracji liczby chromosomów u dębu.

Działuk A, Chybicki I, Welc M, Śliwińska E, Burczyk J. 2007. Presence of triploids among oak species. *Annals of Botany* 99: 959-964.

Analizy zmienności genetycznej roślin

Głównym obszarem moich zainteresowań naukowych pozostaje jednak problem zmienności genetycznej u różnych gatunków roślin. Temu zagadnieniu poświęciłem osiem publikacji:

1. Burczyk J, **Działuk A,** Lewandowski A. 2000. Genetic variation of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Gniewkowo clonal seed orchard. *Sylvan* 144 (7): 65-74.
2. **Działuk A,** Burczyk J. 2002. Comparison of genetic diversity of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from qualified seed tree stand and clonal seed orchard. *Ecological Questions* 2: 89-94.
3. Dąbrowska G, **Działuk A,** Burnicka O, Ejankowski W, Gugnacka-Fiedor W, Goc A. 2006. Genetic diversity of postglacial relict shrub dwarf birch (*Betula nana*) revealed by RAPD analysis. *Dendrobiology* 55: 19-23.

4. **Działuk A**, Burczyk J. 2006. Zmiany struktury genetycznej pomiędzy populacją rodzicielską a potomną drzewostanie nasiennym sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.). Sylwan 10: 30-38.
5. Gout R., **Działuk A**. 2006. The study of genetic diversity in the population of *Pinus sylvestris* L. using chloroplast microsatellites. Journal of Scientific Herald NUFWT of Ukraine 16 (1): 99-104. (po ukraińsku)
6. Chybicki IJ, **Działuk A**, Trojankiewicz M, Sławski M, Burczyk J. 2008. Spatial Genetic Structure Within Two Contrasting Stands of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.). Silvae Genetica 57, (4–5), 193-202.
7. Chybicki IJ, Trojankiewicz M, Oleksa A, **Działuk A**, Burczyk J (2009) Isolation-by distance within naturally established populations of European beech (*Fagus sylvatica*). Botany (dawniej: Canadian Journal of Botany) 87:791-798
8. Kramarets V, Gout R, **Działuk A**. 2013. Population and genetic diversity of Norway spruce (*Picea abies* L) in the Ukrainian Carpathians based on the analysis of nuclear DNA. Naukovi Praci Lisivničoji Akademii Nauk Ukrainy : zбірnik naukowo-tehničnih prac 11:97-101. (po ukraińsku)

Wyniki swoich badań prezentowałem wielokrotnie w postaci referatów i plakatów na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Pełnię funkcję opiekuna naukowego Pracowni Analiz DNA Leśnego Banku Genów Kostrzyca. Kierowałem 5 grantami badawczymi, z czego 3 finansowane były przez NCN/NCBiR. Uczestniczyłem w realizacji 11 grantów finansowanych ze źródeł krajowych oraz w dwóch projektach międzynarodowych (wykonawca).

6. Omówienie działalności dydaktycznej i organizacyjnej

W ramach działalności organizacyjnej pozyskałem środki finansowe w postaci trzech grantów badawczych (kierownik projektu): dwóch projektów finansowanych w ramach grantów MNiSW/NCN oraz jednego grantu rozwojowego finansowanego przez NCBiR. Byłem głównym organizatorem ogólnopolskiej konferencji szkoleniowej „Wykorzystanie sekwencji mikrosatelitarnych w jądrowym DNA drzew leśnych do udowodnienia pochodzenia materiału dowodowego w postępowaniu sądowym” (Leśny Bank Genów Kostrzyca, 27 września 2012r.), na której wygłosiłem pięć referatów. Przeprowadziłem serię szkoleń w zakresie możliwości wykorzystania analiz DNA drzew do zwalczania szkodnictwa leśnego dla Straży Leśnej z terenów RDLP Poznań, RDLP Toruń, oraz RDLP Szczecin. Dwukrotnie prowadziłem wykłady w ramach konferencji szkoleniowych dla Specjalistów ds. Selekcji i Nasiennictwa Regionalnych Dyrekcji Lasów Państwowych. Ponadto, prowadziłem warsztaty laboratoryjne „Bliskie spotkania z DNA” w ramach Dni Nauki organizowanych cyklicznie przez Uniwersytet Kazimierza Wielkiego oraz wygłosiłem wykłady w ramach cyklu “Bliskie spotkania z biologią” organizowanego przez Instytut Biologii Eksperymentalnej UKW. Jestem koordynatorem działalności usługowej Katedry Genetyki UKW w zakresie analiz DNA drzew na potrzeby wymiaru sprawiedliwości oraz organów ścigania. Jestem również administratorem strony internetowej <http://www.analizydnadrzew.ukw.edu.pl/>. Z upoważnienia dyrektora Instytutu Biologii i Ochrony Środowiska, Akademii Bydgoskiej, byłem organizatorem instytutowych seminariów naukowych. W poprzedniej kadencji, jako przedstawiciel pracowników niesamodzielnych, pełniłem funkcję członka Rady Wydziału

Nauk Przyrodniczych. Dodatkowo pełnię funkcje: członka Rady Programowej dla kierunku Biotechnologia oraz członka Instytutowej Komisji ds. Dydaktyki i Jakości Kształcenia. Od roku 2011 pełnię funkcję koordynatora ds. realizacji projektu współpracy akademickiej pomiędzy UKW a Narodowym Leśno-Technicznym Uniwersytetem Ukrainy we Lwowie (Ukraina). Ponadto, od roku 2009, jestem również koordynatorem ze strony UKW w ramach umowy o współpracy z Lasami Państwowymi TANAP (Słowacja). Aktywnie uczestniczę w akcjach promocyjnych Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego. W ich ramach, brałem udział w powstaniu filmów promujących osiągnięcia naukowe pracowników UKW. Od 2008r. pełnię funkcję opiekuna merytorycznego Pracowni Analiz DNA w Leśnym Banku Genów Kostrzyca, który wykorzystuje opracowaną przeze mnie reakcję analizy chloroplastowych sekwencji mikrosatelitarnych do weryfikacji poprawności zbioru nasion sosny zwyczajnej z drzew matecznych.

W ramach działalności dydaktycznej prowadzę zajęcia dydaktyczne dla studentów kierunków biologia oraz biotechnologia (tryb stacjonarny). Dotychczas byłem koordynatorem przedmiotów: Genetyka molekularna, Inżynieria genetyczna, Genetyka sądowa i konserwatorska, Genomika. Ponadto byłem współprowadzącym zajęcia (wykłady i ćwiczenia/laboratoria) w ramach przedmiotu: Genetyka wybranych grup organizmów. Dodatkowo, w ramach Studiów Podyplomowych Przyrody, Biologii oraz Ochrony Środowiska prowadziłem dwa przedmioty: Wybrane zagadnienia genetyki ogólnej (ćwiczenia) oraz Osiągnięcia genetyki molekularnej oraz inżynierii genetycznej (wykłady i ćwiczenia). W ramach studiów zaocznych na kierunku Biologia, prowadziłem dwa przedmioty: Genetyka molekularna oraz Inżynieria genetyczna. W latach 2001-2011 sprawowałem opiekę naukową nad pracami licencjackimi (14) oraz magisterskimi (16) zrealizowanymi w Katedrze Genetyki, Instytutu Biologii Eksperymentalnej, UKW, a także pełniłem funkcję promotora prac licencjackich (4) oraz magisterskich (2) zrealizowanych w latach (2012-2014).

Nagrody i wyróżnienia

Wyrazami uznania osiągnięć naukowych i organizacyjnych było przyznanie następujących nagród:

1. Stypendium konferencyjne Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej, 1.12. 2002r.
2. Wyróżnienie rozprawy doktorskiej przez Radę Wydziału Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, 25.06.2004r.
3. Nagroda Rektora AB III stopnia za wyróżniające się osiągnięcia naukowe, Akademia Bydgoska, 1.10. 2004r.
4. Zespołowa nagroda I stopnia Rektora UKW za wyróżniające się osiągnięcia naukowe, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, 1.10. 2005r.
5. Nagroda indywidualna III stopnia Rektora UKW za wyróżniające się osiągnięcia naukowe, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, 1.10. 2007r.
6. Nagroda Naukowa Prezydenta Miasta Bydgoszczy dla zespołu: prof. dr hab. Jarosław Burczyk, dr Igor Chybicki, **dr Artur Działuk**, dr Andrzej Oleksa, dr Magdalena Trojankiewicz za cykl prac z zakresu genetyki populacyjnej drzew leśnych, opublikowanych w czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej oraz osiągnięcia naukowo-

organizacyjne związane z pozyskaniem znacznych środków na badania naukowe w postaci grantów, 18.04.2009r.

7. Nagroda indywidualna III stopnia Rektora UKW za wyróżniające się osiągnięcia organizacyjne, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, 1.10. 2010r.

Wyrazami uznania osiągnięć na polu analiz DNA drzew na potrzeby wymiaru sprawiedliwości były:

1. udział w programie promocji dorobku naukowego UKW p.t. „Warto ich poznać” <http://www.promocjanauki.ukw.edu.pl/warto-ich-pozna/dr-artur-dzialuk>
2. udział w programie promocji osiągnięć naukowych pracowników UKW http://www.ukw.edu.pl/jednostka/promocja_nauki_ukw/artur_dzialuk

Artur Działuk