



**ISEZ PAN**

**Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt  
Polskiej Akademii Nauk**

---

**ul. Sławkowska 17 • 31-016 Kraków**

---

**dr hab. Łukasz Kajtoch, prof. ISEZ PAN**

Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN

Sławkowska 17

31-016 Kraków

## **RECENZJA**

rozprawy doktorskiej magistra DANIELA STECA

pt. „Taxonomy and evolution of the *Macrobiotus hufelandi* complex (Tardigrada: Macrobiotidae)”,

doktoranta w Instytucie Zoologii i Badań Biomedycznych

na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego,

w związku z ubieganiem się o nadanie stopnia naukowego doktora

w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.

Promotor: dr hab. ŁUKASZ MICHALCZYK, prof. UJ

### **1. Sylwetka doktoranta**

Mgr Daniel Stec uzyskał tytuł zawodowy licencjata (2013; promotor: prof. dr hab. Wojciech Witaliński) oraz tytuł magistra (2015; promotor dr Łukasz Michalczyk) w Instytucie Zoologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Badania jakie wykonywał do pracy licencjackiej dotyczyły biologii roztocza *Varroa destructor* – pasożyta pszczoły miodnej. Natomiast praca magisterska rozpoczęła jego badania nad taksonomią niesporczaków, których kontynuację realizował od 2015 r. w ramach studiów doktoranckich w Instytucie Zoologii i Badań Biomedycznych pod opieką promotora dr hab. Łukasza Michalczyka. W trakcie wykonywania doktoratu odbył dwa krótkoterminowe (w 2016 i 2020 r.) staże w Muzeum Historii Naturalnej w Kopenhadze (Uniwersytet Kopenhaski), a aktualnie przebywa na kilkumiesięcznym stażu w Water Research Institute (Włochy).

### **2. Wartość naukowa rozprawy**

a. Oryginalność badań



**ISEZ PAN**

**Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt  
Polskiej Akademii Nauk**

---

**ul. Sławkowska 17 • 31-016 Kraków**

---

Rozprawa doktorska wykonana przez Pana mgra Daniela Steca jest kompleksowym opracowaniem taksonomii oraz relacji filogenetycznych niesporczaków z kompleksu gatunkowego *Macrobotus hufelandi*. Grupa gatunków należących do tego kompleksu jest szczególnie interesująca i ważna w taksonomii niesporczaków z uwagi na to, że *Macrobotus hufelandi* C.A.S. SCHULTZE, 1834, był pierwszym opisanym gatunkiem w tym typie bezkręgowców. Przez stulecie gatunek ten uznawany był błędnie za kosmopolityczny i ubikwistyczny. Podobne gatunki opisywane na podstawie odnajdywanych różnic morfologicznych były następnie klasyfikowane w grupie *Macrobotus hufelandi*, dalej określonej jako kompleks gatunkowy. Kluczowe w identyfikacji taksonów okazały się m.in. ornamentacja jaj oraz pewne cechy morfologii okazów dorosłych (np. pazurki). Pierwsze dane genetyczne dla okazów należących do tego kompleksu zostały otrzymane stosunkowo późno bo dopiero w 2009 r., jednak sekwencje pochodziły tylko z niektórych taksonów, co uniemożliwiało poznanie filogenezy rodzaju i delimitację gatunków. Potrzeba integratywnych badań taksonomicznych i filogenetycznych dla tego kompleksu gatunków stawała się niezbędna z uwagi na opisy nowych taksonów w liczbie średnio jednego rocznie (!). Doktorant podjął to wyzwanie wykonując badania integratywne - morfologiczne i genetyczne taksonów zakwalifikowanych do kompleksu *Macrobotus hufelandi* oraz gatunków z pokrewnych rodzajów, których efektem były niejednokrotnie charakterystyki nieznanymi w nauce taksonów. W oparciu o te integratywne analizy powstało 14 publikacji, których współautorem był mgr Stec (jako pierwszy autor w ośmiu publikacjach), w tym cztery artykuły stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej. Cały cykl publikacji istotnie rozszerza wiedzę na temat morfologii i zmienności genetycznej niesporczaków z analizowanego kompleksu oraz po raz pierwszy prezentuje powiązania filogenetyczne, a co za tym idzie umożliwia wnioskowanie na temat specjacji niesporczaków *Macrobotus hufelandi*.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów

Wstęp do rozprawy doktorskiej mgra Daniela Steca jest wyczerpującym opisem znaczenia badań integratywnych w taksonomii oraz historii badań nad niesporczakami z kompleksu *Macrobotus hufelandi* i taksonów pokrewnych. Trzon rozprawy doktorskiej stanowią artykuły opublikowane w czasopiśmie międzynarodowym: taksonomicznym (*European Journal of Taxonomy*; EJT – 2 prace, IF= 0.605 w 2018 i 0.586 w 2019), ewolucyjnym (*Molecular Phylogenetics and Evolution*; MPE IF= 3.496 w 2020) oraz wielodyscyplinarnym (*Public Library of Science One*; PLoS ONE, IF=2.776 w



2018). W swoich dziedzinach czasopisma te można określić jako prestiżowe (MPE), renomowane (PLoS ONE) lub dobre (EJT). Udział Doktoranta w przygotowaniu wszystkich publikacji wynosił średnio 66% (w zakresie 50%-80%), a załączone w deklaracjach opisy wkładu pozostałych autorów potwierdzają dominującą rolę mgra Daniela Steca. Prace te cytowane były już 41 razy ale w większości (k. 65%) były to autocytacje, co jest specyficzne w taksonomii organizmów, którymi zajmuje się stosunkowo wąskie grono specjalistów. Opracowania te można podzielić na dwie grupy. W pierwszej znajdują się trzy artykuły opisujące nowe dla wiedzy gatunki niesporczaków w kompleksie *Macrobotus hufelandi*: *M. shonaicus* sp. nov. z Japonii (artykuł w PLoS ONE), *M. canaricus* sp. nov. z Wysp Kanaryjskich, *M. noongaris* sp. nov. z Australii oraz *M. kamilae* sp. nov. z Indii (artykuły w EJT). Dodatkowo wraz z *M. canaricus* opisano kanaryjską populację *M. cf. recens* Cuénot, 1932. W ostatniej publikacji (MPE) zaprezentowano filogenetyczną rekonstrukcję dla szeregu gatunków z kompleksu (w tym dla zidentyfikowanych nowych taksonów) na tle filogenezy rodziny Macrobiotidae. Konsekwencją tej ostatniej pracy jest określenie, że rodzaj *Macrobotus sensu stricto* jest równoważny kompleksowi *Macrobotus hufelandi*, ponieważ w toku analiz filogenetycznych do rodzaju włączono gatunki przypisywane wcześniej do rodzaju *Xerobiotus*, a jednocześnie gatunki skupione w odrębnym kładzie wyłączono w rodzaj *Sisubiotus*. Wykonana w ten sposób rewizja taksonomiczna przywróciła monofiletyzm rodzaju *Macrobotus*. Aktualnie *Macrobotus* s. s. składa się z trzech podkladów (A, B, C) i kilku wyróżnionych kompleksów. Gatunki należące do tak wyróżnionych kładów i kompleksów nie zawsze jednak mają zgodny zestaw kluczowych cech morfologicznych, co zostało obszernie przedyskutowane w publikacjach i rozprawie.

Podsumowując, uważam, że dobór publikacji został dokonany adekwatnie do tematyki rozprawy doktorskiej, wkład mgra Daniela Steca w powstanie tego cyklu publikacji był dominujący, a wszystkie zaprezentowane artykuły mają wysoką wartość merytoryczną i łącznie tworzą interesującą pracę doktorską.

### 3. Wartość merytoryczna rozprawy

Rozprawa doktorska mgra Daniela Steca dowodzi, że jego znajomość pojęć stosowanych w taksonomii i filogenetyce jest bardzo dobra. Podobnie dotyczy umiejętności pracy metodami morfologicznymi (włączając w to wykonywane zdjęć ultrastruktur z wykorzystaniem skaningowej



**ISEZ PAN**

# **Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt Polskiej Akademii Nauk**

---

**ul. Sławkowska 17 • 31-016 Kraków**

---

mikroskopii elektronowej, SEM) jak i molekularnymi (sekwencjonowanie DNA i analizy filogenetyczne). Obszerny wstęp do rozprawy bardzo dokładnie opisuje potrzebne zagadnienia dotyczące taksonomii integratywnej oraz historii badań nad niesporczakami, przy czym opisy te w dużym stopniu pokrywają się z fragmentami wstępów do poszczególnych artykułów. Założenia badań zostały obszernie uzasadnione we wstępie, jednak na końcu tego rozdziału zabrakło zdefiniowania konkretnych celów, ani nie zaprezentowano hipotez badawczych. Zdaję sobie sprawę, że specyfiki badań taksonomicznych, w których trudno przewidywać odkrycia jednak krótkie podsumowanie celów powinno znaleźć się w rozprawie. Zamiast tego doktorant uzasadnił podjęcie tematu i wybór czterech publikacji spośród kilkunastu artykułów jego współautorstwa jako trzonu rozprawy doktorskiej. Zastosowane metody badawcze i narzędzia analityczne zostały dobrane w odpowiedni sposób, przy czym te dotyczące morfologii są oparte na najnowocześniejszych narzędziach (m.in. SEM), a te genetyczne ograniczone są do klasycznego sekwencjonowania wybranych markerów, co jednak jest adekwatne do potrzeb pierwszych badań filogenetycznych i bardzo ograniczonej dotychczasowej wiedzy w temacie. Opis otrzymanych wyników prezentowanych w rozprawie jest klarowny, spójny i zaprezentowany w sposób logiczny. Istotnym wkładem merytorycznym jest rozdział podsumowujący rozprawę. „Ogólna dyskusja” nie tylko profesjonalnie podsumowuje wykonane badania i wnioski z nich wynikające dla zrozumienia taksonomii i relacji filogenetycznych badanych niesporczaków, ale wskazuje na dalsze kierunki potrzebnych badań, które powinny prowadzić do wyczerpującego zrozumienia ewolucji i systematyki tej ciekawej grupy bezkręgowców.

#### **4. Poprawność redakcyjna rozprawy**

Doktorant prezentuje swoje badania na 166 stronach rozprawy podzielonej na 13 części (wliczając wstęp w dwóch językach, artykuły, deklaracje i załączniki). Rozprawa zawiera większość klasycznych rozdziałów, jednak w części ogólnej brakuje opisu metodyki (metody omawiane są w poszczególnych artykułach). Uzasadnienie wyboru metod byłoby dobrym uzupełnieniem ogólnej części rozprawy, szczególnie, że w założeniu rozprawa oparta jest na badaniach integratywnych, a więc należałoby wyjaśnić, które metody i narzędzia zostały wybrane do wyjaśnienia problemów badawczych podjętych w rozprawie doktorskiej. We wstępie brakuje także wydzielonych celów co uważam za największe niedociągnięcie treści rozprawy (cele badawcze ujęte są w artykułach



**ISEZ PAN**

**Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt  
Polskiej Akademii Nauk**

---

**ul. Sławkowska 17 • 31-016 Kraków**

---

stanowiących rozdziały ponumerowane jako I-IV). Wyniki w rozprawie prezentowane są wyłącznie w załączonych oryginalnych czterech artykułach. Szata graficzna rozprawy jest poprawna. Na uznanie zasługują wysokiej jakości zdjęcia obrazujące szczegóły morfologii badanych gatunków – okazów i jaj. Wątpliwości może budzić umiejscowienie deklaracji współautorów – po artykułach, a przed podsumowaniem, co nieco zaburza ciągłość odbioru rozprawy (deklaracje lepiej było umieścić na końcu jako informacje uzupełniające). Wykorzystana literatura obejmuje 61 pozycji, ale dotyczy to tylko publikacji cytowanych we wstępie i dyskusji. Cytowane pozycje obejmują zarówno dawne opracowania kluczowe dla taksonomicznego kontekstu pracy, jak i najnowsze publikacje związane z tematyką rozprawy, co dowodzi bardzo dobrego rozeznania Doktoranta w koniecznym piśmiennictwie.

#### 5. Uwagi krytyczne

Zadaniem recenzenta jest wskazanie zarówno mocnych, jak i słabszych stron rozprawy doktorskiej. Poniżej chciałbym zwrócić uwagę na kilka aspektów, które w mojej ocenie powinny być rozważone i wyjaśnione przez Doktoranta w czasie publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Uwagi dotyczące różnych publikacji:

- 1) Według mnie określenie „multilocus phylogeny” w przypadku użycia jedynie dwóch loci jest pewnym nadużyciem. W badaniach Doktoranta wykorzystano tak naprawdę dwa loci: fragment DNA mitochondrialnego (COI) oraz fragment DNA jądrowego – rybosomalnego (18S – ITS2 – 28S, a więc bez krótkich fragmentów ITS1 i 5.8S). DNA rybosomalne jest powtórzone tandemowo w genomie i znane jest z tzw. „concerted evolution”, które to zjawisko prowadzi do homogenizacji rDNA w powtórzeniach. Nie można więc traktować poszczególnych fragmentów rDNA jako odrębnych loci.

Zastanawia mnie dlaczego Doktorant nie podjął próby zsekwencjonowania innych niesprzężonych loci jądrowych (zamiast lokować środki w sekwencjonowanie trzech przyległych fragmentów DNA) lub wykorzystania danych genomowych w badaniach zwieńczających cykl doktorski? Uważam, że na takim etapie badań na jakim jest obecnie filogenetyka niesporczaków wykorzystanie tradycyjnego sekwencjonowania markerów genetycznych jest wystarczające, niemniej praca taka byłaby bogatsza gdyby oparta była na większej liczbie loci lub markerach genomowych.



- 2) We wstępie (a także w publikacjach z PLoS ONE i MPE) Doktorant zaznacza, że jego rozprawa dotyczy tzw. „delimitacji gatunków”. Faktycznie prace opisujące nowe taksony dotyczą takiego wydzielenia gatunków. Natomiast w żadnej publikacji nie znalazły się metody stosowane w tzw. „species delimitation”, a są to metody celowo opracowane i dedykowane weryfikacji odrębności taksonomiczne w oparciu o dane genetyczne. Zastanawia mnie dlaczego Doktorant nie wykorzystał tych metod w swoich badaniach? Zaprezentowane drzewa filogenetyczne służą poznaniu relacji ewolucyjnych między badanymi próbkami, natomiast nie rozstrzygają same czy proponowany takson jest wystarczająco dobrze poparty statystycznie w danych genetycznych. Podobnie opisy różnic w dystansach genetycznych prezentowane w każdej z tych prac stanowią jedynie źródło danych, które można wykorzystać do delimitacji stosując jedną z metod opartych na tzw. „barcoding gap”.
- 3) W Dyskusjach niektórych publikacji (np. str. 64, 66, 124 rozprawy) znajdują się fragmenty spekulatywne – nie poparte dostępnymi danymi (w tych publikacjach). Jakkolwiek takie przewidywanie są ciekawe, a czasami okazywały się słuszne (widać to dopiero w kolejnych publikacjach np. Chapter IV), to nie powinny być ujmowane w dyskusji publikacji naukowych.

Chapter I - Fig. 8, EJT, Chapter II - Fig. 15, Chapter III – Fig. 16

Zastanawia mnie dlaczego zaprezentowano jedynie ryciny oparte na sekwencjach COI, a nie wykorzystano także informacji z sekwencji rDNA (w żadnej z tych prac)? Dopiero w Chapter IV znajduje się drzewo filogenetyczne opracowane w oparciu o wszystkie dostępne sekwencje mtDNA i rDNA.

Chapter IV - Fig. 1

Nie bardzo rozumiem dlaczego wydzielono kompleks *M. nelsonae*, gdzie ujęte są jedynie dwa osobniki, których sekwencje nie tworzą monofiletycznej grupy (na drzewie widoczna jest politomia)? Zostało to poniekąd wyjaśnione w opisie do Tabeli 5 ale z kolei użyty tam argument o prawdopodobnym monofiletyzmie w przypadku dodania większej liczby sekwencji jest ponownie - spekulatywny.



Zdanie "Tardigrades are phyto-, bacterio- and detritophagous, with many of them being predators and extremely rarely – parasites (NELSON et al. 2015; BRYNDOVÁ et al. 2020)." jest niezbyt fortunnie zredagowane – jeżeli gatunki są fitofagiczne lub detrytusożerne to nie mogą być jednocześnie drapieżne lub sporadycznie – pasożytnicze.

Publikacja w PLoS ONE str. 21 – 24

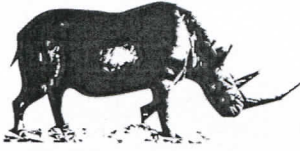
Nie bardzo widzę sens w takim sposobie publikowania otrzymanych sekwencji DNA skoro sekwencje te były zamieszczone w Banku Genów.

#### **6. Ocena dorobku doktoranta**

Mgr Stec posiada już imponujący dorobek publikacyjny jak na tak wczesny etap kariery naukowej. Opublikował on łącznie 56 oryginalnych prac naukowych, które były cytowane już 596 razy skutkującą wysoką wartością indeksu Hirsha równą 14. Doktorant kierował także czterema projektami (grantem NCN - Preludium, projektem finansowanym przez Linnean Society of London i Systematics Association oraz dwoma grantami Synthesis), brał także udział w dwóch grantach promotora. Ma on także doświadczenie jako redaktor czasopisma międzynarodowego (taksonomicznego), recenzent kilku artykułów i prelegent na konferencjach (krajowych i międzynarodowych). Dokonania naukowe mgra Daniela Steca zostały docenione w postaci kilku stypendiów naukowych. Należy podkreślić, że powstanie tak wartościowej rozprawy doktorskiej (oraz pozostałych publikacji) zostało umożliwione przez warunki badawcze utworzone przez Promotora. Doktorant wykorzystał efektywnie te warunki, ale także wyszedł z inicjatywą zdobywając dodatkowe środki na badania, co dowodzi jego predyspozycji do pracy naukowej.

#### **7. Ocena końcowa**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest wartościowym opracowaniem naukowym dotyczącym taksonomii i filogenezy niesporczaków z kompleksu gatunkowego *Macrobiotus hufelandi*. Mgr Daniela Stec zrealizował podjęte w rozprawie zagadnienia badawcze, w szczególności opisując nowe taksony, dokonując rekonstrukcji filogenezy grupy oraz przeprowadzając rewizję taksonomiczną rodzaju *Macrobiotus* oraz rodzajów pokrewnych.



# Instytut Systematyki i Ewolucji Zwierząt Polskiej Akademii Nauk

ISEZ PAN

ul. Sławkowska 17 • 31-016 Kraków

Wykorzystał do tego metody integratywne (morfologiczne jak i molekularne). Jego badania zostały opublikowane w międzynarodowych czasopiśmie, a więc przeszły już przez ocenę ekspercką, co jest dodatkowym argumentem przemawiającym za wysoką jakością uzyskanych wyników. Udokumentowana zdolność do wykonywania prac badawczych w szerokim zakresie metodycznym i technicznym, oraz już bardzo znaczne dokonania naukowe doskonale rokują naukowej przyszłości mgra Daniela Steca.

Ja, niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgra DANIELA STECA spełnia warunki określone w art. 13.1 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 z późn. zmianami) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgra DANIELA STECA do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

TAK

Ja, niżej podpisany wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej. Uzasadnienie wniosku

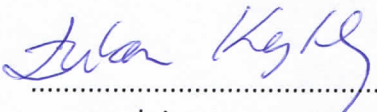
TAK

Rozprawa doktorska mgra Daniela Steca jest oryginalnym opracowaniem ważnego tematu badawczego, który został wykonany przez Doktoranta z sukcesem o czym świadczy opublikowanie wyników doktoratu w cyklu artykułów, w których pełnił o zawsze rolę wiodącego autora. Na szczególne pokreślenie zasługuje to iż badania mgr Daniela Steca skutkowały opisami wielu taksonów, co trwale wzbogaca wiedzę biologiczną i powinno być docenione wbrew współczesnym trendom umniejszającym znaczenie taksonomii w nauce.

Uważam, że rozprawa doktorska mgra Daniela Steca zasługuje na wyróżnienie przez Radę Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

19.04.2021

.....  
data sporządzenia recenzji

  
.....  
podpis recenzenta