



**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

Prof. Magdalena Błażewicz
Katedra Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii
Banacha 12/16
tel: +48 42 635 4297
e-mail: magdalena.blazewicz@biol.uni.lodz.pl

Łódź 20 kwietnia 2021 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ MGR DANIELA STECA, PT. *TAXONOMY AND EVOLUTION OF THE MACROBIOTUS HUFELANDI COMPLEX (TARDIGRADA: MACROBIOTIDAE)*.

Promotor: dr hab. ŁUKASZ MICHALCZYK, prof. UJ

Recenzent: prof. dr hab. MAGDALENA BŁAŻEWICZ

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Daniela Steca, pt. *Taxonomy and evolution of the Macrobiotus hufelandi complex (Tardigrada: Macrobiotidae)*, przygotowanej pod kierunkiem dr hab. ŁUKASZA MICHALCZYKA, prof. UJ, promotora niniejszej pracy, została opracowana na prośbę prof. dr hab. Andrzej Kozika, przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego, którą otrzymałam w dn. 25 marca 2021 r.

Zgodnie z art.13. ust. 1. Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U., z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z późn. zm.) recenzja dysertacji doktorskiej ma na celu ocenę czy prezentowana praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a Kandydat do stopnia naukowego wykazuje odpowiednią wiedzę teoretyczną i posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia prac naukowych i rozwiązywania problemów badawczych. Przygotowując niniejszą recenzję skupiłam się na ocenie wyboru przedmiotu badań i celach pracy, zastosowanych metodach badawczych i podejścia do rozwiązania postawionego problemu badawczego, a także na ocenie wiedzy teoretycznej Kandydata w dyscyplinie Nauki Biologiczne i jego umiejętnościach do samodzielnego przygotowania dzieła naukowego. Dokonałam oceny formalnej strony pracy, tj. struktura, poprawność cytowania literatury, przygotowanie ilustracji i dokumentacji naukowej.

Przedstawiona do oceny dysertacja liczy 167 stron i została napisana w języku angielskim. Wyjątek stanowi jednostronicowe streszczenie w języku polskim, które zostało zamieszone zgodnie z wymogiem wspomnianej Ustawy. Praca została zaopatrzona stroną tytułową, spisem treści oraz rozdziałem wstępnym. Istotę pracy stanowią cztery oryginalne wieloautorskie publikacje naukowe opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Pracę kończy krótkie podsumowanie w postaci wniosków ogólnych.

Koncepcja różnorodności biologicznej jest jednym z głównych filarów nowoczesnych badań biologicznych. Szczegółowa i możliwie pełna wiedza o otaczającej nas przyrodzie umożliwia rozumienie procesów zachodzących w ekosystemach naturalnych i stanowi ważny, jeśli nie najważniejszy element racjonalnego oraz umiejętnego korzystania z zasobów naturalnych. Raport Międzyrządowej Platformy ds. Różnorodności Biologicznej i Funkcji Ekosystemu ONZ przygotowany w 2019 r. wskazał realne zagrożenia dla różnorodności biologicznej związane pośrednio lub bezpośrednio z działaniami o charakterze antropogenicznym. Niepokojące prognozy przekazane w raporcie skłaniają nie tylko do głębokiej refleksji, ale także nakazują bezzwłoczne podjęcie działań, których efekt pozwoli w pełni rozumieć i chronić różnorodność biologiczną, ale także postrzegać ją jako naturalny kapitał i bezcenne dziedzictwo.

Sedno rozprawy doktorskiej mgr Steca stanowią cztery rozdziały oznaczone symbolami rzymskimi I–IV. Każdy rozdział to oryginalna praca naukowa, opublikowana w dobrym lub prestiżowym czasopiśmie naukowym o zasięgu międzynarodowym: jedna praca została opublikowana w *PLoS ONE*, dwie w *European Journal of Taxonomy* i jedna w *Molecular Phylogenetic and Evolution*. Tematyka każdej publikacji ściśle wiąże się z zagadnieniem odkrywania różnorodności biologicznej i jest wynikiem jej wnikliwej analizy. Można zatem powiedzieć, że dysertacja Pana mgr Daniela Steca została w całości poświęcona odkrywaniu złożonej natury różnorodności biologicznej i znakomicie wpisuje się w priorytety stawiane współczesnej nauce oraz działaniom zmierzającym do ochrony różnorodności biologicznej. Za obiekt swoich badań Pan Stec wybrał niesporczaki z rodziny Macrobiotidae, bardzo zróżnicowanej grupie lądowych Panarthropoda reprezentowanej przez około 300 gatunków i 14 rodzajów. W centrum zainteresowań znalazł się rodzaj *Macrobiotus* — takson, którego definicja i zróżnicowanie stanowiły element licznych dyskusji i kontrowersji praktycznie od czasu jego odkrycia. Nie bez znaczenia jest, że pierwszy gatunek Tardigrada został zaklasyfikowany właśnie do tego rodzaju i, podobnie jak w przypadku wielu innych grup zwierząt, nim poznano jego rzeczywistą różnorodność i dostrzeżono cechy morfologiczne umożliwiające identyfikację gatunkową, rodzaj stał się polifiletycznym tworem grupującym taksony często odległe ewolucyjnie. Opisując różnorodność rodzaju *Macrobiotus* i badając pokrewieństwa filogenetyczne innych rodzajów klasyfikowanych do rodziny Macrobiotidae Pan Doktor przygotował wspomniane cztery publikacje naukowe stanowiące istotę prezentowanej dysertacji.

Rozdział 1 „An integrative description of *Macrobiotus shonaicus* sp. nov. (Tardigrada: Macrobiotidae) from Japan with notes on its phylogenetic position within the *hufelandi* group”.

Daniel Stec, Kazuharu Arakawa, Łukasz Michalczyk. *PLoS* (2018) 13(2): e0192210; deklarowany udział Doktoranta 60%, Kazuharu Arakawa jako autor korespondencyjny] prezentuje opis nowego dla nauki gatunku niesporczaka *Macrobotus shonaicus* z wykorzystaniem danych z zakresu morfologii, morfometrii i metod molekularnych, co wpisuje się w nowoczesne podejście do taksonomii (taksonomia integratywna). Skonstruowanie drzewa filogenetycznego w oparciu o sekwencje dostępne w GenBank oraz nowe sekwencje (18S RNA, 28S rRNA, ITS i COI) pozwoliły na zaklasyfikowanie badanego gatunku do grupy nazywanej „*M. hufelandi*”. Obserwacja ornamentacji jaj *M. shonaicus*, którego wyrostki zaopatrzone są w długie „filamenty” obecne również w osłonach jajowych *Macrobotus polypiformis* i *Macrobotus paulinae*, uznane zostały za synapomorfie definiujące kład.

W **Rozdziale 2** [“Integrative description of *Macrobotus canaricus* sp. nov. with notes on *M. recens* (Eutardigrada: Macrobiotidae)”. Daniel Stec, Łukasz Krzywański, Łukasz Michalczyk, *European Journal of Taxonomy* 452: 1–36; Daniel Stec autor korespondencyjny, deklarowany udział Doktoranta w pracy – 75%] opisany został nowy dla nauki gatunek *Macrobotus canaricus* oraz opracowana została morfologia grupy osobników znalezionych w porostach skalnych Wysp Kanaryjskich. Zdaniem Autorów osobniki w badanej kolekcji były morfologicznie najbardziej zbliżone do *Macrobotus recens* Cuenot, 1932, którego niedostateczny opis formalny i brak danych genetycznych uniemożliwiły pełną identyfikację opracowywanego materiału. Ten wniosek został opatrzony komentarzem stwierdzającym, że bez wnikliwej analizy materiału *M. recens* z miejsca typowego, niemożliwe jest rozstrzygnięcie, czy badany materiał reprezentuje ten takson czy jest nowym dla nauki gatunkiem. Streszczając pracę warto podkreślić taksonomiczną roztropność Autorów, którzy posiadając pełną dokumentację genetyczną i morfologiczną badanego taksonu nie zdecydowali się na definitywne oznaczenie materiału. Ważnym wynikiem pracy jest obserwacja, że gatunki z rodzaju *Macrobotus* reprezentują dwie wyraźne linie filogenetyczne grupujące gatunki o odmiennym charakterze osłon jajowych. Wyróżniony typ „*recens*” reprezentował gatunki, których osłony jajowe zaopatrzone były w wyrostki o typowych kształtach (grzybkowate), w przeciwieństwie do gatunków z grupy „*hufelandi*” składających jaja z wyrostkami stożkowymi.

Praca jest bardzo starannie przygotowana, ale wstęp można byłoby uzupełnić informacjami o stanie wiedzy i różnorodności biologicznej Tardigrada Wysp Kanaryjskich, a także podsumować stopień poznania różnorodności genetycznej Macrobiotidae. Lista sekwencji genetycznych znanych dla tej rodziny została zaprezentowana dopiero na stronie 6 w części „Material and Methods”. Ponadto niewiele uwagi poświęcono opisowi aktualnego stanu wiedzy *Macrobotus recens*, któremu przecież dedykowana jest znacząca część pracy. Nie odnalazłam również informacji o miejscu typowym (type locality) *M. recens* oraz historii odkrywania jego kolejnych stanowisk lub komentarza o aktualnym zasięgu geograficznym. Ostatnie zdanie Introduction (strona 3) i cały pierwszy paragraf ze strony 4 prezentują wyniki i nie powinny być zamieszczone w rozdziale wstępnym. Kolejna moja uwaga odnosi się do *Macrobotus macrocalix*, dla którego uzyskano sekwencje (cztery markery) i które stanowią wynik tej publikacji, a

przynajmniej tak to można zrozumieć z lektury Tabeli 3 (strona 5). Włączenie tego gatunku do analizy było trafną decyzją z uwagi na jego bliskie pokrewieństwo z analizowanym *M. recens*. Mimo tego, w pracy brakuje wyjaśnienia czy choćby komentarza w tym zakresie. Informacja o pozycji *M. recens* w kladzie „hufelandi” na stronie 26 jest powtórzona na stronie 28.

W **Rozdziale 3**: [“Two new species of the *Macrobiotus hufelandi* complex (Tardigrada: Eutardigrada: Macrobiotidae) from Australia and India, with notes on their phylogenetic position”. Kyle Coughlan, Daniel Stec, *European Journal of Taxonomy* 573: 1–38; Daniel Stec autor korespondencyjny; deklarowany udział Doktoranta w pracy – 80%] autorzy opisują dwa nowe dla nauki gatunki *Macrobiotus noongaris* (z Australii) i *Macrobiotus kamilae* (z Indii). Opisane gatunki zostały „dodane” do wcześniej konstruowanych drzew filogenetycznych celem określenia ich relacji filogenetycznych z innymi gatunkami z rodzaju *Macrobiotus* i testowania dwóch wyodrębnionych linii ewolucyjnych. Uzyskany wynik nie potwierdził wcześniejszych obserwacji, że gatunki reprezentujące poszczególne linie filogenetyczne różni charakter wyrostków na osłonach jajowych, stąd postawiono tezę o szybszym tempie ewolucji osłon jajowych w odniesieniu do cech morfologicznych.

W **Rozdziale 4** [“New multilocus phylogeny reorganises the family Macrobiotidae (Eutardigrada) and unveils complex morphological evolution of the *Macrobiotus hufelandi* group.” Daniel Stec, Matteo Vecchi, Sara Calhim, Łukasz Michalczyk, *Molecular Phylogenetics and Evolution* (2020): 106987; Daniel Stec autor korespondencyjny; deklarowany udział w pracy – 50%] zaprezentowano pierwsze drzewo filogenetyczne Macrobiotidae z wykorzystaniem czterech markerów molekularnych (18S RNA, 28S rRNA, ITS i COI). Uzyskane wyniki analiz genetycznych interpretowano w świetle wiedzy morfologicznej, tj. ubarwienie ciała, charakter pazurków na odnóżach i charakter osłon jajowych (powierzchnia i wyrostki). Potwierdzono wcześniejsze obserwacje o polifiletyczności rodziny Macrobiotidae i rodzaju *Macrobiotus* oraz zdefiniowano nowy rodzaj *Sisubiotus*. Ponadto wykazano, że rodzaj *Xerobiotus* jest synonimem rodzaju *Macrobiotus*. W efekcie tych taksonomicznych re-aranżacji dotychczas polifiletyczny rodzaj *Macrobiotus* uzyskał charakter taksonu monofiletycznego, o wysokim zróżnicowaniu zarówno morfologicznym jak genetycznym. Podsumowując pracę, Autorzy podkreślają wysoką różnorodność biologiczną badanej rodziny niesporczaków, a zdanie z dyskusji „*We start to see the picture painted by nature*” doskonale ujmuje niedostatek wiedzy o bioróżnorodności jaki wyłania się z przeprowadzonych badań.

Jak wspomniałam, cztery publikacje stanowiące podstawę dysertacji p. mgr Daniela Steca zostały opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych, wysoko cenionych przez międzynarodową społeczność badawczą. To oznacza, że wartość merytoryczna tych prac przeszła rygorystyczną weryfikację jeszcze przed formalną publikacją, a oceny były przygotowane przez kompetentnych i starannie dobranych recenzentów. W takich okolicznościach nie widzę potrzeby ponownej oceny tych publikacji i chciałbym pogratulować Doktorantowi i współautorom publikacji oraz sukcesu, jakim jest każde odkrycie nowego dla nauki gatunku. Pragnę podkreślić, że prawidłowo wykonany opis gatunku, a za taki należy uznać

każdy gatunek opisany przez Pana Steca i jego współautorów, zaopatrzone pełną dokumentacją morfologiczną, morfometryczną i genetyczną, stanowią ważny element wiedzy przyrodniczej, który nie podlega dezaktualizacji i na trwałe wpisuje się w historię odkrywania różnorodności biologicznej. Niemniej jednak jako recenzent rozprawy doktorskiej, chciałabym się przedstawić moją opinię na temat dysertacji jako pracy stanowiącej zamkniętą całość.

Dysertacja rozpoczyna się zwięzłym, liczącym 4,5 strony maszynopisu rozdziałem wstępnym, w którym naszkicowano problematykę badawczą, dobór obiektu badań oraz uzasadniono wybór integratywnego i multidyscyplinarnego podejścia do badań taksonomicznych. Chociaż rozdział ten jest bardzo starannie przygotowany i stanowi przyjemną dla czytelnika lekturę, to jest on niezmiernie syntetyczny i w mojej ocenie można byłoby więcej uwagi poświęcić morfologii/anatomii, biologii i ekologii Macrobiotidae, a w szczególności rodzaju *Macrobiotus*, bowiem stanowią ważną część uzyskanych wyników, ale przede wszystkim pozwalają na ocenę stanu wiedzy Doktoranta. W pierwszym zdaniu dyskusji (rozdział I, PLoS, str. 25) Autorzy stwierdzają, że *M. shonaicus* posiada Oral Cavity Armature typu *maculatus* albo *patagonicus*, ale w żadnej części pracy nie znalazłam definicji tych terminów. Podobna uwaga odnosi się do powłok jajowych odznaczających się fascynującymi kształtami i niewiarygodną różnorodnością form. Analizując osłony jajowe niesporczaków z rodzaju *Macrobiotus* Doktorant wyróżnia osłony z wyrostkami typowymi i nietypowymi, tj.: „atypical egg processes” lub „modified egg process” (zakładam, że oba określenia odnoszą się do tego samego typ wyrostków), chociaż brakuje wyjaśnienia, jak należy rozumieć te terminy i wreszcie w jakim stopniu są one „nietypowe” (unikalne) dla Tardigrada. Więcej informacji oczekiwałabym także na temat różnorodności biologicznej samych Macrobiotidae, w tym prezentacji ich bogactwa gatunkowego, a także komentarza na temat aktualnego rozmieszczenia Macrobiotidae i rodzaju *Macrobiotus* na świecie. Tak naszkicowany stan aktualnej wiedzy mogłyby stanowić znakomity element dyskusji i interpretacji uzyskanych przez Doktoranta wyników.

W pracach, które podlegają ocenie, a dysertacja doktorska przecież do takich należy, powinny znaleźć się jasno sformułowane zadania badawcze i/lub hipoteza oraz syntetyczne podsumowanie uzyskanych wyników (np. liczba gatunków, rodzajów, redyskrypcji, liczba uzyskanych sekwencji i odniesienie tych informacji do aktualnego stanu wiedzy) nawet, jeśli miałyby one częściowo powtórzyć treść prezentowanych publikacji naukowych. W uwagach końcowych liczących zaledwie 2,5 strony tekstu brakło takiego podsumowania. Autor wspomina, że w ciągu pięciu lat poświęconych na przygotowanie rozprawy doktorskiej, opublikował łącznie 52 prace (w 19 jest pierwszym autorem), z których, jak pisze w rozdziale wstępnym (strona 8), wybrał cztery jako podstawę prezentowanej dysertacji. Sytuacja taka jest nietypowa, bowiem zazwyczaj Doktoranci realizują poszczególne zadania badawcze według ustalonego planu dążąc do znalezienia odpowiedzi na postawione pytanie badawcze lub gromadzą dane do weryfikacji sformułowanych hipotez badawczych. W przypadku rozprawy doktorskiej mgr Steca sekwencja działań była odwrotna, tzn. uzyskane i już opublikowane wyniki badań Doktorant ułożył w logiczny ciąg. Takie rozwiązanie chociaż, jak wspomniałam,

nietypowe, trudno uznać za niewłaściwe lub błędne, tym bardziej, że ogólny odbiór pracy jest bardzo pozytywny. Wyłania się z niego naturalna potrzeba Kandydata rozumienia ewolucji studiowanej grupy zwierząt i wielka fascynacja badanymi organizmami. W mojej ocenie jest to fascynacja jaka cechuje każdego prawdziwego badacza przyrody i należy to uznać za prawdziwy atut.

Rozprawa doktorska mgr Steca jest przygotowana bardzo starannie i poza pojedynczymi, bardzo drobnymi błędami edytorskimi, nie znalazłam w pracy uchybień natury redakcyjnej. Podobną uwagę mam na temat cytowanych prac: literatura jest obszerna i poprawnie cytowana. Mam natomiast komentarz odnośnie użycia dwóch terminów, tj. „species complex” i “species group”, które odniosłam wrażenie, używane jest ze sporą dowolnością („*Macrobiotus hufelandi* complex”; „the *hufelandi* group”; „*M. hufelandi* group” „the *hufelandi* complex”). Zazwyczaj „species complex” odnosi się do grupy gatunków bardzo blisko ze sobą spokrewnionych, morfologicznie bardzo podobnych i przy obecnym stanie wiedzy niemożliwych do rozróżnienia. Kompleks gatunków jest zazwyczaj wynikiem słabo opisanego gatunku „kluczowego”, a w następstwie w literaturze odnotowywane są jego błędne rekordy. Natomiast termin „grupa” gatunków stosowana jest najczęściej do konkretnych gatunków dobrze zdefiniowanych, które są ze sobą na tyle blisko spokrewnione, że stanowią monofiletyczny kład. Punkt 6 Załącznika B (General Recommendation) Międzynarodowego Kodeksu Nomenklatury Zoologicznej dotyczy pisowni nazw zoologicznych („The scientific names of genus- or species-group taxa should be printed in a type-face (font) different from that used in the text; such names are usually printed in italics, which should not be used for names of higher taxa. Species-group names always begin with a lower-case letter, and when cited should always be preceded by a generic name (or an abbreviation of one); names of all supraspecific taxa begin with an upper-case (capital) letter.”) i zaleca by czcionka stosowana do pisowni nazwy gatunkowej i rodzajowej różniła się od pozostałego tekstu, stąd do pisowni nazw gatunkowych rodzajowych stosuje się czcionkę pochyloną (kursywa). Przez analogię wszystkie inne nazwy, w tym nazwy o randze wyższej niż gatunek i rodzaj, zazwyczaj pisane są czcionką zwykłą; podobnie „grupa gatunków” i „kompleks gatunków” powinny być pisane czcionką zwykłą i najlepiej w cudzysłowie (tj. „*hufelandi*” group).

Na koniec mam jeszcze komentarz dotyczący deponowania materiałów typowych. W pierwszej publikacji wyraźnie podano, że materiały typowe są zdeponowane w Katedrze Entomologii, Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego, ale podobnych informacji zabrakło w trzech kolejnych pracach. Co prawda w numerze katalogowym paratypu i holotypu zakodowana jest informacja o instytucji przechowującej materiał typowy, ale zawsze warto pełną informację zamieszczać w pracy, najlepiej w części opisującej materiał.

Przechodząc do podsumowania chciałabym podkreślić, że moja ogólna ocena pracy wypada pozytywnie. Zaprezentowane badania były bardzo potrzebne i zostały bardzo starannie przeprowadzone. Efekty prezentowanej pracy mają znaczący wkład w wiedzę o różnorodności biologicznej i stanowią oryginalne źródło informacji o różnorodności niesporczaków z rodziny

Macrobiotidae i rodzaju *Macrobiotus*. Zastosowanie nowoczesnego — multidyscyplinarnego podejścia do badań taksonomicznych, które logicznie łączy badania morfologiczne, morfometryczne i molekularne, potwierdzają kompetencje Doktoranta w zakresie stosowania różnorodnych i adekwatnych metod badawczych. Opis łącznie pięciu nowych dla nauki gatunków oraz opublikowanie nowych sekwencji genetycznych stanowią trwały wkład Autora w wiedzę w zakresie różnorodności biologicznej niesporczaków, a wykonane analizy filogenetyczne dostarczyły wartościowych informacji o ich ewolucji. Przygotowanie i opublikowanie czterech oryginalnych prac naukowych potwierdza posiadanie odpowiedniej wiedzy teoretycznej w dyscyplinie i w odniesieniu do obiektu badań Doktoranta. Dwie prace, przygotowane we współpracy ze specjalistami z Australii i Japonii świadczą o wysokiej jakości prowadzonych badań, a międzynarodowy pierwiastek tych prac jest wartym uznania.

Konkludując pragnę stwierdzić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia kryteria art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65/2003, poz. 595, z późn. zm.). Zatem zgłaszam Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego wniosek o uznanie, że rozprawa Pana mgr Daniela Steca odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim oraz o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na wysoką jakość opublikowanych prac stanowiących sedno rozprawy doktorskiej oraz wkładu w wiedzę o różnorodności biologicznej i ewolucji Tardigrada wnoszę formalny wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr Daniela Steca stosowną nagrodą.

Magdalena Błażewicz

