

Prof. dr hab. Artur Burzyński
Instytut Oceanologii PAN
Sopot

Sopot, 13 listopada 2021 roku

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Rysiewskiej

Niniejsza recenzja rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Rysiewskiej zatytułowanej „Filogeografia i wyróżnianie gatunków u *Bythinella* (Caenogastropoda: Truncatelloidea) Europy Środkowej i Bałkanów”, zwanej dalej Rozprawą, wykonanej pod kierunkiem promotora, prof. dr hab. Andrzeja Falniowskiego z Pracowni Malakologii Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych UJ, została sporządzona na podstawie umowy z Wydziałem Biologii UJ, reprezentowanym przez Dziekana, zawartej w wyniku decyzji Rady Wydziału podjętej dnia 20.06.2017 roku w procedowanym przewodzie doktorskim. W związku ze zmianą stosownych przepisów adresatem wniosku z niniejszej recenzji jest jednak Rada Dyscypliny Nauki biologiczne UJ.

Zgodnie z obowiązującym w tym przypadku art. 31 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (jednolity tekst opublikowany w Dz. U. z 2017 r. poz. 1789), rozprawa doktorska powinna stanowić **oryginalne rozwiązanie problemu naukowego** oraz wykazywać zarówno **ogólną wiedzę teoretyczną** kandydata w danej dyscyplinie naukowej, jak i **umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy** naukowej. Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 roku (opublikowane w Dz. U. z 2018 r. poz. 261) regulujące tryb i warunki przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim w paragrafie 6, punkt 4 nakłada na recenzenta obowiązek szczegółowego uzasadnienia oceny spełniania tych warunków przez rozprawę. W kolejnych częściach recenzji przedstawię więc najpierw szczegółową ocenę tych trzech aspektów Rozprawy, a następnie wniosek końcowy.

Problem naukowy postawiony w rozprawie doktorskiej i jego rozwiązanie

Tytuł Rozprawy bardzo trafnie i jednoznacznie definiuje postawiony problem naukowy, nie ma więc potrzeby przytaczać go w tym miejscu recenzji *in extenso*. Waga i znaczenie tego problemu nie podlegają co prawda ocenie, ale warto w tym miejscu podkreślić, że wpisuje się on w waży dla biologii ewolucyjnej nurt badań nad specjacją allopatryczną. Z drugiej strony ma on też aspekt populacyjny, istotny z punktu widzenia oceny i zarządzania bioróżnorodnością. Postawiony problem naukowy sprowadza się do pytania o morfologiczne i genetyczne zróżnicowanie ślimaków z rodzaju *Bythinella* na badanym obszarze. Te niewielkie ślimaki zamieszkują źródła, ich zróżnicowanie stanowi więc efekt relatywnie szybkich procesów ewolucyjnych, a postawiona hipoteza badawcza zakłada, że wobec braku oczywistej, różnicowej presji środowiskowej będzie to głównie ewolucja morfostatyczna. Cała rozprawa skupia się

na weryfikacji tej hipotezy. Oryginalność postawionego w ten sposób problemu jest bezdyskusyjna. Zagadnienie to jest oczywiście dyskutowane w literaturze, adekwatnie przywołanej tak we wstępie Rozprawy jak i w Dyskusji, jednakże zarówno liczba przebadanych osobników, jak i zakres terytorialny, z którego zostały pobrane na potrzeby opisanych w Rozprawie badań, budzą szacunek i stanowią o oryginalności Rozprawy.

Zastosowana metodyka stanowi niezbędny kompromis między możliwościami technicznymi i finansowymi a rozdzielczością niezbędną do uzyskania jednoznacznych wniosków. Doktorantka przeprowadziła na zebranych materiale serię niezwykle wymagających badań morfometrycznych, które jednak poza ogólnym potwierdzeniem znacznego zróżnicowania nie przyniosły jasnych konkluzji. Słusznie upatrując jedynej nadziei w metodach genetycznych, większy wysiłek włożyła ona w określenie zróżnicowania genetycznego badanych zwierząt. W tym celu podjęte zostały próby celowanej amplifikacji i sekwencjonowania kilku markerów genetycznych. Naturalnie, są to wszystko metody standardowe, ale w kontekście tego konkretnie zakresu próbek zostały zastosowane po raz pierwszy, stanowiąc tym samym próbę oryginalnego rozwiązania postawionego problemu. Doktorantka uzyskała łącznie ponad 150 sekwencji markera mitochondrialnego i ponad 90 sekwencji markerów jądrowych. Przeanalizowała także wszystkie dostępne w publicznych bazach danych sekwencje tych markerów w zakresie, na jaki pozwalały stowarzyszone z nimi metadane. Zaobserwowała bardzo duże zróżnicowanie haplotypowe przy często nieznaczących odległościach genetycznych między haplotypami, co stanowi argument uniemożliwiający odrzucenie hipotezy badawczej o dominującym wpływie ewolucji morfostatycznej w badanym układzie. Tym samym, postawiony problem można uznać za rozwiązany, przynajmniej w zakresie, na jaki pozwoliła przyjęta metodologia.

Kompetencje doktorantki

Ogólna wiedza teoretyczna w zakresie nauk biologicznych

Czy przy pisaniu Rozprawy doktorantka wykazała się ogólną wiedzą teoretyczną w zakresie nauk biologicznych? Co prawda cała Rozprawa jest napisana w sposób zwarty, momentami nieco zbyt zdawkowo traktując poruszane zagadnienia, to jednak nie ulega wątpliwości, że do przeprowadzenia i interpretacji opisanych badań potrzebna była zarówno ogólna wiedza teoretyczna, jak i całkiem konkretne umiejętności praktyczne stanowiące niezbędne wyposażenie współczesnego biologa. Wobec powyższego nie waham się odpowiedzieć twierdząco na tak postawione pytanie.

Samodzielność naukowa

W przypadku monografii, której jedynym autorem jest doktorant nie ma potrzeby wartościowania jego wkładu w jej powstanie i wobec pozytywnej opinii o poziomie naukowym zaprezentowanej Rozprawy, ocena możliwości samodzielnego prowadzenia prac naukowych przez doktorantkę również nie budzi moich wątpliwości. Jednakże praca doktorska jest zawsze wykonywana pod kierunkiem promotora i tylko on jest w stanie kompetentnie ocenić poziom samodzielności naukowej doktoranta. Na podstawie przedstawionej Rozprawy mogę domniemywać, że stanowi ona w znacz-

nym stopniu dzieło samodzielne. Paradoksalnie, wniosek ten opieram w pewnej mierze na potknięciach i niedostatkach pracy. Świadczą one z jednej strony o znacznej swobodzie pozostawionej przez promotora, a z drugiej właśnie o stopniu samodzielności adekwatnym do etapu kariery naukowej, na którym doktorantka się znajduje.

W tym miejscu pozwolę sobie przedstawić listę potknięć i niejasności, na które natknąłem się podczas czytania Rozprawy. Większość tych kwestii nie wymaga żadnej odpowiedzi i przytaczam je głównie po to, aby wskazać doktorantce obszary wymagające większej staranności przy prezentowaniu wyników swoich badań. Jednak przy tych kilku zagadnieniach, które według mnie budzą większe wątpliwości pozwoliłem sobie wyraźnie zaznaczyć, że będę oczekiwał ich rozwinięcia podczas obrony.

Strona 3, linijka 2: „przeszło 250”. W angielskiej wersji (strona 5) jest 200, niespójność prezentacji.

S3: w streszczeniu brak jest podziału na paragrafy, to bardzo utrudnia czytanie.

S3 przedostatnia linijka: problem z gramatyką, w zdaniu brak orzeczenia.

S4, l 1: niejasne jest dla mnie sformułowanie „populacje reprezentujące kład”. Proszę o wyjaśnienie, zawsze wydawało mi się, że to kład może być obecny w populacji, nie odwrotnie.

S4, l 4-4: „Szerokie zasięgi... F_{ST} równe zero”: nie ma tego stwierdzenia w angielskiej wersji i nie do końca rozumiem co doktorantka miała tu na myśli, proszę o wyjaśnienie.

S5, l 15: literówka w wyrazie „pf”

S7 l 20-21: problem z gramatyką: „siedliskami... zamieszkiwanym...”

S7 ostatnia linijka: „przykładami”: kolokwializm.

S8 l 2-3: problem z gramatyką, niezgodność liczby: „popularne... koncepcje... spowodowała...”

S9, l 3: „dla odmiany”: kolokwializm

S9, l 5: „co nie może być uzasadnione”: nie jest jasne dlaczego. Tego typu stanowcze stwierdzenie we wstępie wymaga podania odnośnika albo przynajmniej jakiegoś argumentu.

S9, zdanie zaczynające się w linijce 16 jest wyjątkowo niefortunne. Zawiera błędy interpunkcyjne utrudniające zrozumienie sensu, wyraz „nierządko” jest powtórzony co negatywnie wpływa na styl, a ponadto wyliczanie odnośników literaturowych zbiorczo na końcu zdania i do tego poprzedzone klauzulą „np.” jest w bardzo złym guście. Oczywiście powinno się każde nietrywialne stwierdzenie wstępu podeprzeć konkretnym odnośnikiem, ale umieszczanie „lektury obowiązkowej” w formie list odnośników na końcach zdań jest niewłaściwe.

S9 początek trzeciego akapitu. Zdanie zaczyna się kolokwializmem „niejako”, a złe wrażenie potęguje powtórzenie słowa „zawsze”. Zdanie jest za długie, należało wyrazić myśl w kilku krótszych, lepiej skontrolowanych zdaniach.

S9 ostatnie zdanie: nie zgadzam się z tezą, że należy wymieniać te prace tylko dlatego, że korzystały z podobnej metodyki. Jeśli już są cytowane, powinno się napisać, o czym konkretnie traktują. Zdaję sobie sprawę, że wydłużyłoby to wstęp,

- ale ponieważ liczy on zaledwie cztery strony to być może warto było to zrobić. Podobny niedosyt pozostaje po przeczytaniu pierwszego paragrafu na stronie 10: dowiadujemy się, że coś było badane, ale nie co z tych badań wynikało.
- S10, początek drugiego paragrafu: literówka w wyrazie „uoływie”.
- S10: drugie zdanie drugiego paragrafu: „Niestety...”. W zdaniu tym doktorantka tak zaplątała się w podwójne zaprzeczenia, że jego sens mi umyka.
- S10, trzecie zdanie drugiego paragrafu: „Także dalsze...”. Zapytam retorycznie co właściwie oznacza stwierdzenie, że „dalsze pokrewieństwa... powstały... dawno”?
- S10: zdanie zaczynające się od „Celem przedstawionej rozprawy...”. Niestety zdanie to jest zupełnie niepotrzebnie obwarowane warunkami i bardzo niezręcznie sformułowane. Interpretacji raczej się nie „uzupełnia”, można co najwyżej ją „podać” lub „zapropnować”.
- S10: linijka trzecia od dołu: użycie pierwszej osoby w tym miejscu jest niezręczne, ponieważ cały akapit pisany jest bezosobowo („zsekwencionowano”).
- S10: ostatnie zdanie: co to jest „obraz ewolucji”? Nie jest jasne czy chodzi tylko o figurę stylistyczną, czy też doktorantka ma tu coś konkretnego na myśli. W każdym wypadku lepiej byłoby posłużyć się precyzyjniejszą terminologią.
- S11, l 3: „różnych” i „pomiędzy” to zbędne ozdobniki, po ich wykreśleniu zdanie nie zmienia sensu.
- S11, l 8: szyk wyrazów w zdaniu jest błędny, proponowałbym zacząć od „Materiał był zbierany...”.
- S11, drugi akapit. Kolokwializmy „w sumie”, „a oprócz tego”, „w tym najwięcej” nic nie wnoszą i są zbędne.
- S11, rozdział 2.1: zabrakło mi odniesienia do sposobu oznaczania zbieranego materiału, prosiłbym o krótkie ustosunkowanie się do tej kwestii.
- S11, paragrafy trzeci i czwarty nie mają związku z tytułem rozdziału, w którym się znajdują.
- S11, trzecia linijka rozdziału 2.2, literówka w słowie „również”
- S12, l 4: zdanie o transformacjach jest niezręczne, niepoprawne językowo. To nie pomiary były transformowane tylko ich wyniki (wartości).
- S12, rozdział 2.3. Brak jest informacji o składzie buforów. Ponadto zamiast stężenia podana jest tylko objętość proteiny K.
- S12-13, rozdział 2.4. Bardzo proszę unikać sformułowań typu „startery w tabeli”. Startery to oligonukleotydy, substancje chemiczne i nie mogą znajdować się w tabeli. W tabeli są natomiast ich sekwencje. Nie powinno się używać litery „x” tam, gdzie chodzi o krotkość. Do określenia krotkości służy osobny znaczek „×”. Wygląda on podobnie, ale to jednak co innego. Procedura EXOSAP wymaga podania odnośnika, wszystkie skróty wymagają rozwinięcia, a odczynniki i sprzęt mające nazwy handlowe - podania ich producenta. Z punktu widzenia metodologii nauki istotne jest przedstawienie takiego opisu zastosowanych procedur, który umożliwi ich niezależne powtórzenie. W tym kontekście jednoznaczność i precyzja opisu są absolutnie niezbędne, w tym precyzja w określaniu stężeń.

Jednostka stężenia „M” to skrót od „mol/litr”, tym samym podana jednostka pM/ mikrolitr nie ma sensu. Bardzo proszę o zaprezentowanie w trakcie obrony składu wszystkich używanych buforów, stosując przy tym jedynie poprawne jednostki stężeń, a nie przepisy „wykonawcze” odnoszące się do objętości mieszanych roztworów.

S13 trzecie od końca zdanie rozdziału 2.4: literówka w wyrazie „wymłam”

S13 rozdział 2.5, pierwsze zdanie: brak spacji w drugim wyrazie.

S14 drugi akapit: byłoby lepiej, gdyby podano odnośnik do XSEDE.

S15 l 11: „Późniejsza” - słowo zbędne, cel jego użycia jest niejasny. Ponadto kolejność położenia na drzewie jest całkowicie arbitralna.

S15 przedostatnie zdanie pierwszego akapitu: sformułowanie „nowo badane ślimaki” jest niezręczne.

S 15 rozdział 3.1. W tym rozdziale po raz pierwszy pojawiają się odniesienia do nazw gatunkowych. Rozumiem, że nie sposób było we wstępie scharakteryzować wszystkie 200+ gatunków, ale wprowadzanie ich „z marszu” dopiero w rozdziale „Wyniki”, szczególnie w kontekście braku opisu metodyki oznaczania powoduje pewną dozę niepokoju epistemologicznego. Wobec tego proszę o nakreślenie w trakcie obrony aktualnego stanu wiedzy taksonomicznej w zakresie dystrybucji gatunków źródeł dla badanego obszaru, z podkreśleniem wpływu ostatniego rozdziału dyskusji (4.3) na aktualny stan wiedzy.

S16 ostatni akapit - S17 pierwszy akapit. Wiele z tych „zdań” nie ma orzeczenia co jest niefortunne. Być może prosta tabela tekstowa lepiej nadawałaby się do prezentacji tych danych.

S19, początek drugiego akapitu. Niestety stwierdzenie to nie broni się zbyt dobrze w kontekście liczby osobników analizowanych z poszczególnych stanowisk. Proszę o dodatkowy, obszerniejszy komentarz w trakcie obrony, zawierający możliwe scenariusze mogące rozstrzygnąć poruszaną tu kwestię.

S22 czwarty akapit: nie jest jasne jakie miary odległości genetycznych były stosowane.

S22, piąty akapit, trzecia linijka: „należących do nich osobników” jest zbędne.

S24 l 8: „parę gatunków” to kolokwializm.

S24 pierwszy akapit: nie jest jasne o jakich „wartościach AMOVA” jest tu mowa.

S24, przedostatnia linijka: nie jest jasne o jakie „p” chodzi.

S25, trzeci akapit. Sformułowanie [kład „oksydazowy”] nie podoba mi się. Terminologia molekularna jest w całej Rozprawie stosowana dość swobodnie, ale odniesienie do elementów drzewa opartego o marker mitochondrialny poprzez ten molekularny termin uważam za wyjątkowo niefortunne, niemal żargonowe. Lepiej byłoby posługiwać się konsekwentnie nazwami genetycznymi, stosując kursywę i małe litery jak nakazują konwencje genetyczne (czyli *cox1*, ewentualnie *co1*), zamiast szermować terminem „oksydaza cytochromowa”, która jest ogromnym kompleksem białkowym, a nie „markerem”. W dodatku większość białek tego kompleksu jest kodowana jądrowo.

S25 przedostatnia linijka trzeciego akapitu: literówka w wyrazie „of”.

S27 l 8-10: brak orzeczenia.

S28 l 1 (i w kilku innych miejscach na tej stronie): „np.” jest zbędne.

S28, l 5: „jakaś” jest zbędne.

S28 drugi akapit, przedostatnie zdanie: problem stylistyczny, powtórzenie wyrazu.

S28, przedostatnia linijka: przy odniesieniu do własnych wyników w dyskusji, wskazane jest doprecyzowanie, o które konkretnie wyniki chodzi. Powinna być przywołana konkretna tabela, rysunek, liczba, ewentualnie strona.

S29 l 4-6: problem z rodzajem gramatycznym, niejasne czy mowa o gatunku, czy o prąciu.

S29 końcówka pierwszego akapitu: ten tekst lepiej pasowałby do wstępu niż do dyskusji.

S30 ostatni akapit: brak jakiegokolwiek odniesienia do wyników.

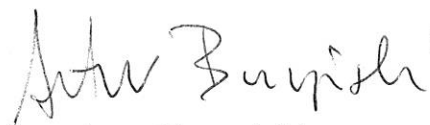
S35 l 4: cieszę się, że doktorantka dostrzega ten problem. Jednakże, ze względu na jego znaczenie, pozwolę sobie poprosić o nieco obszerniejszy komentarz w tej sprawie w trakcie obrony. Byłoby na przykład bardzo pożądane przedstawienie i krótkie przedyskutowanie konkretnego i dobrze udokumentowanego przypadku, w którym dane mitogenomiczne (a więc oparte o kompletną sekwencję markera mitochondrialnego) pozostawałyby w rażącej sprzeczności z drzewem filogenetycznym gatunków opartym na kompletnych sekwencjach genomu jądrowego (a więc z rekonstrukcją maksymalnie wiarygodną).

S35 l 16-17: brak orzeczenia.

Żadna z powyższych uwag nie stanowi zarzutu wystarczającej wagi, by negatywnie ocenić całą Rozprawę.

Wniosek końcowy

Wobec powyższego oceniam, że Rozprawa spełnia wymagane warunki i wnioskuję o dopuszczenie mgr Aleksandry Rysiewskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.



Artur Burzyński