

Formularz recenzji rozprawy doktorskiej
Rada Dyscypliny Nauki biologiczne
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Imię i nazwisko kandydata: lic. PIOTR GĄSIOREK, LDG

Tytuł rozprawy doktorskiej: Evolution, biodiversity and natural classification of Echiniscidae
(Heterotardigrada)

Promotor: dr hab. ŁUKASZ MICHALCZYK, prof. UJ

Recenzent: prof. dr hab. KRZYSZTOF SZPILA

1. Wartość naukowa rozprawy

a. Oryginalność badań (25-200 słów):

Przedstawiona dysertacja lic. Piotra Gąsiorka jest całkowicie oryginalnym opracowaniem. Publikacje wchodzące w jej skład zawierają propozycje nowych hipotez filogenetycznych, ewolucyjnych i biogeograficznych, sformułowanych w oparciu o opracowany w przeważającej mierze przez Doktoranta zestaw danych molekularnych, morfologicznych i dotyczących rozmieszczenia. Hipotezy te stanowią ważny i rozstrzygający głos w toczącej się obecnie dyskusji na temat filogenezy i biogeografii rodziny Echiniscidae, grupy obejmującej znaczącą część współczesnej fauny niesporczaków. Odtworzone relacje pokrewieństwa stały się podstawą zaproponowanych przez Doktoranta zmian w klasyfikacji badanej grupy. Niekwestionowany aspekt oryginalności posiada także część dysertacji poświęcona zagadnieniom alfa-taksonomicznym, obejmująca nowe opisy oraz rewizje rodzajów i gatunków niesporczaków w oparciu o metody taksonomii integratywnej. Dysertacja lic. Gąsiorka opracowaniem nowoczesnym i wyznaczającym wysoki standard badań z zakresu taksonomii, systematyki oraz filogenezy Tardigrada i nie odbiega w tym względzie od najlepszych opracowań poświęconych innym grupom bezkręgowców.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów (25-200 słów):

Każda z czterech przedstawionych prac-rozdziałów rozstrzyga odrębne problemy z zakresu taksonomii, filogenezy czy biogeografii Echiniscidae. Są one poświęcone kolejno rodzajom *Echiniscus*, *Cornechiniscus*, *Pseudechiniscus* oraz ustanowionemu w pierwszej publikacji cyklu rodzajowi *Barbaria*. Powtarzalny, świetnie dopracowany schemat badań (to zaleta w badaniach taksonomicznych) obejmuje szczegółowe analizy morfologiczne badanych gatunków z zastosowaniem metod mikroskopii świetlnej i SEM oraz uzyskanie sekwencji wybranych genów nDNA i mtDNA. W oparciu o dane molekularne odtwarzana była filogeneza badanego taksonu a uzyskane drzewa stanowiły podstawę do prześledzenia ewolucji kluczowych cech morfologicznych (budowa pazurków; rozmieszczenie, kształt i ornamentacja płytek grzbietowych). Uzyskane rezultaty to liczne ustanowienia nowych taksonów, rewizje, nowe hipotezy filogenetyczne, ewolucyjne (cechy morfologiczne) a także biogeograficzne. Wydzielając nowe taksony doktorant oparł się głównie na danych molekularnych, jednak w każdym przypadku podając także jako definicję zestaw cech morfologicznych. Należy podkreślić, że grupa opracowana przez doktoranta jest taksonem bardzo trudnym z wieloma problemami metodologicznymi. Należą do nich niewielka ilość cech, brak okazów typowych, brak prawidłowo przyporządkowanych danych molekularnych, niewielu aktywnych specjalistów (w kontekście możliwych konsultacji). Na uwagę zasługuje ulokowanie dwóch artykułów (rozdziałów) w renomowanych czasopismach zoologicznych znanych z dbałości o jakość publikowanych artykułów, takich jak *Cladistics* i *Zoological Journal of the Linnean Society*. Czasopisma te charakteryzują się długim procesem publikacyjnym, ale posiadanie takich prac zdecydowanie nobilituje w środowisku systematyków-taksonomów.

2. Wartość merytoryczna rozprawy

(umiejętność wprowadzenia w tematykę badawczą i jasność sformułowanych hipotez badawczych, dobór metod badawczych i narzędzi statystycznych do analizy danych, sposób przedstawienia wyników, krytyczna analiza wyników i umiejętność ich interpretacji na tle literatury przedmiotu, jasność i poprawność wniosków) (25-200 słów):

Wartość merytoryczną rozprawy oceniam bardzo wysoko. Hipotezy badawcze, zarówno ogólne, jak i szczegółowe (dla każdej z publikacji-rozdziatów) są jasno sformułowane a zaproponowane metody badawcze adekwatne do ich weryfikacji. Podstawą analiz taksonomicznych jest dopracowanie metod umożliwiających uzyskanie powtarzalnych i porównywalnych danych. Wybrany obiekt badań stwarza w tym aspekcie spore trudności. Niesporczaki to organizmy o miękkim ciele, trudno poddające się powtarzalnej preparacji w kontekście zachowania ogólnego kształtu ciała. Struktury zesklebione, trójwymiarowe (pazurki, ornamentacja kutykuli) są także trudne do powtarzalnego udokumentowania metodami mikroskopii świetlnej w różnych wariantach czy SEM. Należy tu zaznaczyć, że Doktorant opanował ten warsztat w znakomitym stopniu, zapewne korzystając z doświadczeń pracy całego zespołu swojego promotora oraz zdobytych podczas zagranicznych staży. Cechy morfologiczne są świetnie udokumentowane z zastosowaniem różnorodnych metod mikroskopii świetlnej oraz SEM. Stanowi to wiarygodną podstawę zarówno opisów nowych taksonów, jak i rozważań ewolucyjnych. Relacje filogenetyczne zostały odtworzone i przedstawione graficznie przy wykorzystaniu właściwego, aktualnego oprogramowania. Ich interpretacja jest prawidłowa a wyciągane na tej podstawie wnioski dotyczące zmian w klasyfikacji taksonów Echniscidae oceniam jako uzasadnione.

3. Poprawność redakcyjna rozprawy

(układ pracy, jasność stylu, szata graficzna itp.) (25-200 słów):

Dysertacja ma poprawny układ. Główna część dysertacji została poprzedzona wstępem, gdzie zaznaczono wyraźnie cel całości badań (hipotezy) i jak jej poszczególnych rozdziałów. Każda z obszernych czterech prac-rozdziatów (odpowiednio 20, 37, 16 i 30 stron) ma układ charakterystyczny dla typowej publikacji naukowej z podziałem na wstęp, materiał i metody, wyniki i dyskusję. Na uwagę zasługuje przejrzyste przedstawienie dokumentacji morfologicznej oraz uzyskanych drzew filogenetycznych. Całość została zamknięta interesującym podsumowaniem, gdzie zamieszczono także nowe dane, korespondujące z uzyskanymi wynikami zgodnie z wcześniejszymi przewidywaniami autora.

4. Uwagi krytyczne

Przedstawiona do oceny dysertacja prezentuje wysoki poziom merytoryczny. Przedstawione uwagi krytyczne należy traktować raczej jako sugestie modyfikacji/aktualizacji części stosowanych metod. Podstawą nowej klasyfikacji proponowanej przez Doktoranta jest analiza danych molekularnych. Dlaczego do odtwarzania filogenezy zastosowano sekwencje tak ograniczonej ilości genów (2-5)? Dlaczego Doktorant ograniczył się wyłącznie do metod sekwencjonowania Sangerowskiego? Stosowanie sekwencjonowania Sangerowskiego można uznać powoli za przeżytek, z powodu względnie wysokiego kosztu (czas, środki finansowe) uzyskania stosunkowo krótkich fragmentów sekwencji. Dodatkowo użyteczność części wybranych przez Doktoranta genów (COI, ITS) do odtwarzania relacji filogenetycznych jest kwestionowana. Filogenezy oparte na „zwierzęcej” sekwencji barkodowej COI są niewiarygodne, szczególnie w kontekście topologii/niskiego wsparcia wewnętrznych węzłów rekonstruowanych drzew. Obserwowane w pracach doktoranta słabe wsparcie wewnętrznych węzłów drzew (np. Gąsiorek et al. 2020, Cladistics: Fig. 1-3) – to z pewnością wynik zastosowania tej ograniczonej liczby genów, niekoniecznie adekwatnych do rozstrzygnięcia o relacjach na wyższym poziomie taksonomicznym. Zdaję sobie sprawę z trudności w izolacji DNA z tak małych organizmów jakimi są niesporczaki (co ogranicza zastosowanie części metod z zakresu możliwości jakie daje sekwencjonowanie nowej generacji). Ważnym aspektem było też zapewne uzyskanie danych molekularnych kompatybilnych z tymi już opublikowanymi i zdeponowanymi w repozytoriach. Daje to możliwość zwiększania próbkowania, bardzo ważnego w badaniach bogatych gatunkowo grup bezkręgowców. Chciałbym zachęcić Doktoranta do sięgnięcia w przyszłych badaniach po alternatywne metody molekularne, umożliwiające uzyskanie bogatych sekwencji także z niewielkich izolatów DNA (genome skimming, UCE). Znane genomy niesporczaków mają stosunkowo niewielkie rozmiary, więc ich zsekwencjonowanie dla większej liczby gatunków nie powinno być szczególnie trudne. Zastosowanie metod filogenomicznych z pewnością pomoże w uzyskaniu drzew o wysokim wsparciu także na wewnętrznych węzłach, rozstrzygając

relacje pokrewieństwa na wyższych poziomach taksonomicznych. Druga kwestia dotyczy wykonywanych pomiarów morfometrycznych. W pracy-rozdziale numer dwa, gdzie znajdują się liczne tabele z wynikami pomiarów (Tabele 3-11), brakuje choćby jednej ilustracji wyjaśniającej jak były mierzone poszczególne fragmenty ciała badanych osobników. Takiej ilustracji brakuje także we wstępie i pozostałych pracach-rozdziałach. Powstaje wrażenie hermetyczności, przygotowania opracowania możliwego do odbioru tylko dla wąskiej grupy specjalistów (to częsta wada opracowań taksonomicznych...). Mam też wątpliwości, czy stosowana zamykania badanych okazów w preparatach mikroskopowych (na płaskich szkiełkach) pozwala na wykonywanie powtarzalnych pomiarów między osobnikami pomiarów długości całego ciała i jego niesklerotyzowanych fragmentów. U miękkociałych organizmów jakimi są niesporczaki, ostateczna długość ciała może zależeć od np. stopnia docisku szkiełka nakrywkowego. Dotyczy to również struktur zesklerotyzowanych, takich jak pazurki. Jak pokazują porównanie obrazów SEM i tych uzyskanych dzięki mikroskopii świetlnej (Gąsiorek i in. 2022, Roy Soc. Open Sci: Fig. 18; Gąsiorek i in. 2022, Zool J Linn Soc: Fig. 11), mimo imponującej biegłości Doktoranta, w preparatach nie zawsze udało się uzyskać dokładnie „płaską” pozycję pazurków umożliwiającą ich dokładny pomiar. Czy Doktorant ma w związku z tym jakieś własne przemyślenia/rozwiązania? Być może w przyszłych badaniach należałoby postawić na rozbudowanie warsztatu o techniki mikroskopowe takie jak CLSM, umożliwiające precyzyjne dokumentowanie kształtu trójwymiarowych struktur.

5. **Ocena końcowa** (uzasadnienie 25-200 słów):

Przedstawiona dysertacja dostarczając nowe, oryginalne dane genetyczne, morfologiczne i biogeograficzne dla głównej linii ewolucyjnej dużej grupy bezkręgowców. Poprzez udane zastosowanie metod taksonomii integratywnej, Doktorant wyznacza nowe kierunki i standardy w badaniach taksonomii, systematyki, filogenezy i biogeografii niesporczaków. Jego wiodąca rola w powstaniu dysertacji nie budzi żadnych wątpliwości. Uważam, że lic. Piotr Gąsiorek wykazał się zdolnością do skutecznego prowadzenia badań naukowych oraz dobrą umiejętnością opracowania wyników i przedstawienia ich w formie rozprawy naukowej.

Ja, niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **lic. Piotra Gąsiorka** 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 **lic. Piotra Gąsiorka** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

TAK/NIE

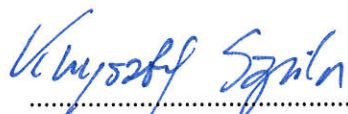
Ja, niżej podpisany wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej. Uzasadnienie wniosku (25-200 słów)

W mojej opinii przedstawiona dysertacja niemal w każdym zakresie prezentuje bardzo wysoki poziom merytoryczny. W zasadzie oceniając przedstawiony materiał nawet w ramach postępowania habilitacyjnego, nie miałbym wątpliwości co do jego pozytywnej, wręcz entuzjastycznej oceny. Publikacje wchodzące w skład dysertacji są przygotowane na najwyższym światowym poziomie i bardzo dobrze ulokowane. Prace te wyznaczają nowe kierunki i standardy w badaniach taksonomii, systematyki, filogenezy i biogeografii niesporczaków. Zdecydowanie popieram wnioski o wyróżnienie rozprawy doktorskiej **lic. Piotra Gąsiorka**.

TAK/NIE

11.05.2022

.....
data sporządzenia recenzji



.....
podpis recenzenta