

prof. dr hab. Andrzej Kruk

Katedra Ekologii i Zoologii Kręgowców

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Uniwersytet Łódzki

Recenzja rozprawy doktorskiej

pt.: „Odtwarzanie historii rozmieszczenia wybranych gatunków ryb piskorzowatych (Cobitidae, Osteichthyes) w Europie od plejstocenu do współczesności w oparciu o modelowanie nisz ekologicznych”

autorstwa **mgr. Jacka Stefaniaka**, wykonanej
pod kierunkiem promotora dr. hab. Jana Kotusza, prof. UWr
w Muzeum Przyrodniczym Uniwersytetu Wrocławskiego

Podstawa formalna wykonania recenzji

Podstawę wykonania recenzji stanowi pismo nr WNB.402.10.2019.IR Przewodniczącego Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego, dr. hab. Marcina Kadeja, prof. UWr z dnia 30 maja 2023 r. odnoszące się do uchwały nr 99/2022 Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne UWr z dnia 19 maja 2022 r. w sprawie wyznaczenia recenzentów w przewodzie doktorskim.

Ocena formalna rozprawy

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska ma postać monografii liczącej 103 strony, w tym: 3 tabele i 43 ryciny. Zawiera wszystkie niezbędne elementy pracy doktorskiej. Układ pracy jest przejrzysty. Praca podzielona jest na następujące rozdziały: Wprowadzenie, Dane i metody, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie, Streszczenie, Summary oraz Literatura. Zawiera także dwa Suplementy: I. Lista źródeł użytych do kompilacji punktów występowania badanych gatunków kóz oraz datasety z GBIF, a także II. Logi wyjściowe algorytmu MAXENT dla *Cobitis tanaitica*, *C. elongatoides* i *C. taenia*. W rozdziale Literatura zacytowano 132 pozycje, w tym 124 w języku angielskim (94%) i 8 (6%) w języku polskim, natomiast w Suplemencie I – 102 pozycje, w tym 18 w języku angielskim (18%) i 84 (82%) w języku polskim.

Tematyka rozprawy

Ryby piskorzowate (Cobitidae) są niewielkimi, przydennymi organizmami żyjącymi w rzekach i jeziorach Palearktyki. Rodzaje *Sabanejewia*, *Cobitis* i *Misgurnus* skolonizowały Europę ze wschodniej Azji 16-33 MYA, po czym nastąpiło rozdzielenie się gatunków, na których rozprawa się koncentruje: *C. taenia*, *C. tanaitica* oraz *C. elongatoides*. Wskutek hybrydyzacji gatunków z rodzaju *Cobitis*, obok gatunków rodzicielskich występują stabilne linie klonalne rozmnażające się gynogenetycznie.

Istnieje wiele badań genetycznych, na podstawie których tłumaczy się scenariusze polodowcowej rekolonizacji Europy przez kozy i powstanie ich hybryd. Brakuje natomiast przekrojowych, wielkoskalowych analiz warunków klimatycznych panujących podczas ostatniej fazy epoki lodowcowej (*Last Glacial Maximum* – LGM, ok. 22 000 lat temu) oraz ostatniego interglacjału (*Last Inter Glacial* – LIG, interglacjał eemski, ok. 130 000 lat temu). Tym samym problematyczną pozostaje lokalizacja refugium dla wybranych gatunków z rodzaju *Cobitis*. Z tego względu celem rozprawy była weryfikacja poprawności istniejących scenariuszy filogeograficznych dla trzech gatunków kóz z rodzaju *Cobitis* w oparciu o dane środowiskowe (klimatyczne) za pomocą narzędzi modelowania niszy ekologicznej (*ecological niche modeling* – ENM).

Ocena merytoryczna rozprawy

Doktorant sformułował trzy szczegółowe hipotezy:

H1: okres LGM był etapem pogorszenia się warunków środowiskowych dla badanych gatunków i w znaczący sposób zmniejszył ich zasięgi w stosunku do poprzedzającego LIG, ograniczając występowanie kóz do niewielkich, izolowanych populacji na terenach o łagodniejszym/bardziej optymalnym klimacie (refugium);

H2: niektóre refugia lodowcowe były wspólne dla dwóch lub więcej gatunków *Cobitis*, przez co mogło dochodzić w nich do kontaktu i hybrydyzacji, dających początek współcześnie obserwowanym liniom klonalnym;

H3: proces rekolonizacji Europy przez wybrane gatunki *Cobitis* – a co za tym idzie ich obecny zasięg – po ustąpieniu lodowca determinowany był podobieństwem (nachodzeniem na siebie) nisz ekologicznych ww. gatunków.

Dzięki weryfikacji i zestawieniu danych z różnych źródeł powstała prawdopodobnie największa baza danych nt. rozmieszczenia trzech badanych gatunków. W pracy uwzględniono 18.835 wiarygodnych stwierdzeń tych ryb.

Mgr J. Stefaniak zastosował modelowanie niszy ekologicznej z algorytmem MAXENT i wtyczką do oprogramowania ArcGIS – SDMToolbox. Analizy oparto na 35 zmiennych klimatycznych z baz WORDCLIM i ENVIREM oraz 175 warstwach, przyciętych do zakresu 33°N—72°N i 18°W—54°E, co odpowiada niemal 29 mln km².

Na uznanie zasługuje podchodzenie przez Doktoranta z rezerwą w stosunku do zastosowanych metod. Jest On świadom założeń modelu MAXENT oraz ograniczeń wynikających z ich niespełnienia wskutek nielosowego i nierównomiernego rozmieszczenia punktów poboru prób ryb (*sampling bias*). Z tego względu zastosował kilka technik łagodzących skutki ww. problemu i ostatecznie zredukował liczbę stwierdzeń gatunków do 1070. Dodatkowo, Doktorant zwraca uwagę, że wyniki dla *C. tanaitica* powinny być traktowane z ostrożnością z uwagi na niewielką liczbę stwierdzeń (30) zbliżoną do minimalnej zapewniającej wiarygodność wyników (25). W rozdziale Wyniki (str. 24-25) pojawia się kolejna informacja dot. ostrożności metodycznej, a mianowicie że przy modelowaniu uwzględniono jedynie potwierdzone molekularnie dane dot. *C. tanaitica*. Ponadto, Doktorant zastosował dodatkową warstwę korygującą w celu obniżenia ryzyka przeuczenia algorytmu MAXENT wskutek koncentracji części stwierdzeń na jednym, niewielkim obszarze.

Na uznanie zasługuje również nakład pracy na etapie wyboru najlepszych modeli. Doktorant zbudował 3000 modeli i dokonał wyboru trzech najlepszych z nich. Takie podejście jest szczególnie cenne wobec braku jednolitej standardowej procedury (standardowych ustawień) wykonywania analiz z zastosowaniem algorytmu MAXENT. Dojrzałość Doktoranta jako biologa, bioinformatyka i badacza przejawia się w żmudnych i skutecznych poszukiwaniach najlepszego modelu poprzez uwzględnienie trzech płaszczyzn: 1) równowagi pomiędzy zbyt dokładnym i nadmiernie rozmytym dopasowaniem modelu, 2) prostoty modelu (lub jak pisze Doktorant – „esencjalności”) wskutek redukcji liczby uwzględnionych z nim zmiennych (z 35 do ośmiu albo dziewięciu), 3) sensu pod względem ekologicznym (lub jak pisze Doktorant – „prawdziwości ekologicznej”).

Imponująca jest także biegłość w posługiwaniu się przez mgr. J. Stefaniaka różnymi programami GIS.

Rozdział Wyniki Doktorant rozpoczyna od ponownego zwrócenia uwagi na konieczność zachowania ostrożności przy interpretacji wyników z uwagi na rozdziwną pomiędzy wynikającą z modelu fundamentalną a realizowaną niszą ekologiczną.

Wyniki analiz wsparły hipotezy szczegółowe H1 i H3, natomiast H2 nie znalazła potwierdzenia. Szczególnie cenne jest to ostatnie stwierdzenie, bowiem oznacza, że w refugium glacialnych z małym prawdopodobieństwem dochodziło do kontaktu badanych gatunków i ich hybrydyzacji. Kolejnym ważnym osiągnięciem Doktoranta jest fakt, że sprawnie zonglując wynikami swoich analiz i hipotezami ekologicznymi przedstawił wiarygodny scenariusz rekolonizacji postglacialnej.

W Dyskusji Doktorant powraca do kwestii niedoskonałości technik modelowania nisz ekologicznych, co – tak jak powyżej – postrzegam jako przejaw Jego dojrzałości jako badacza. Świadczy to również o doskonałej znajomości zastosowanych narzędzi. Doktorant umiejętnie przedstawił te aspekty w kontekście ekologicznym i genetycznym wynikającym z danych literaturowych.

Mgr J. Stefaniak zapanował nad mnogością zmiennych, sprawnie je ze sobą zestawiał i sformułował logiczny wywód. Wykazał się także dobrą znajomością literatury przedmiotu, zarówno anglo-, jak i polskojęzycznej. Świadczy to o opanowaniu umiejętności pozyskiwania wiedzy ze źródeł obcojęzycznych, jak i docierania do artykułów krajowych, często niedostępnych w bazach literatury. W przypadku młodego pokolenia badaczy ta druga umiejętność wydaje się czasami być trudniejszą do osiągnięcia niż ta pierwsza. Dla przyrodnika wszak dotarcie do lokalnych źródeł wiedzy jest niezwykle użyteczne – tym bardziej im te źródła są starsze.

Do największych osiągnięć ocenianej dysertacji zaliczam:

- osadzenie dotychczas sugerowanych scenariuszy zmiany zasięgów trzech badanych gatunków w wymodelowanych warunkach klimatycznych;
- potwierdzenie możliwości istnienia dodatkowego refugium dla *C. taenia* – atlantyckiego, położonego na terenie współczesnej Francji;
- dowiedzenie, że należy odwrócić wektor migracji *C. taenia* dla jednego z kładów (2-1), tj. uznać, że migrował on z zachodniej Europy (refugium atlantyckiego) na wschód, a nie jak dotychczas sądzono z refugium pontokaspijskiego na zachód;

- wyjaśnienie ograniczonej dyspersji *C. elongatoides* i *C. tanaitica* ekspansją *C. taenia* z dwóch kierunków, tj. nie tylko z refugium pontokaspijskiego (jak dwa pierwsze gatunki), ale również z zachodniej Europy (refugium atlantyckiego);
- zaktualizowanie i potwierdzenie czasu powstania hybrydowych linii klonalnych dzięki wynikom analizy potencjalnego nakładania się zasięgów dla LIG, LGM i współczesności. W LGM refugia były na tyle rozłączne, że proces powstawania hybryd mógł zachodzić przed LGM lub podczas tworzenia się wtórnych stref kontaktu wskutek rekolonizacji polodowcowej.

Wyniki badań mgr. J. Stefaniaka stanowią niewątpliwie istotny głos w dyskusji na temat polodowcowej kolonizacji Europy. Odpowiadają one z jednej strony na kilka ważnych pytań, ale jednocześnie stanowią inspirację do rozszerzenia badań i pogłębienia analiz.

Należy nadmienić, że rozprawa powstała we współpracy z Czeską Akademią Nauk i Państwowym Instytutem Geologicznym.

Uwagi krytyczne, komentarze i pytania

Tytuł rozprawy wydaje się być zbyt szeroko zakrojony. Odnosi się do rodziny Cobitidae, podczas gdy treść pracy dotyczy zasadniczo rodzaju *Cobitis*.

W Wynikach pojawiają się elementy metodyczne (np. ostatni akapit na str. 27), a także dyskusji (wraz z cytowaniem innych autorów).

Jak ma się informacja o 8-9 najważniejszych zmiennych dla poszczególnych gatunków ze str. 20 do liczby zmiennych uwzględnionych w Tabeli 2, w szczególności 10 zmiennych dla *C. taenia* i siedmiu dla *C. elongatoides*?

Mgr J. Stefaniak nie ustrzegł się zapożyczeń z j. angielskiego. Dla przykładu „wzorce dystrybucji” i „dystrybucja punktów” (str. 6 i 17) to zapewne odpowiednio wzorce rozmieszczenia i rozmieszczenie punktów, „techniki mitygujące wpływ (...)” (str. 17; podobnie str. 35) to techniki łagodzące wpływ, „balans” (str. 17, 19) to równowaga, „analiza finalna” (str. 19) to analiza końcowa, „predykuje odpowiednie warunki” (str. 32) to przewiduje odpowiednie warunki, „fitness” (str. 35) to dostosowanie, „inkorporacja (...) wyników do (...) modeli” (str. 37, 41) to włączenie wyników do modeli, „rafinacja danych” (str. 41) to oczyszczenie danych, a „kompilacja” danych (str. 41) to ich połączenie lub zestawienie.

Pomniejsze uwagi

- str. 5 – „odsiewając na koszu skrzelowym (...) cząsteczki organiczne” – chodzi raczej o cząstki organiczne;
- str. 5 – Jest „oparte o mitochondrialny DNA” – powinno być: „oparte na mitochondrialnym DNA”; podobnie na str. 7, 11, 25, 35 i 44;
- str. 5 – cytowanie (Băcescu & Mayer, 1969) wydaje się być wstawione w błędnym miejscu;
- str. 5, 6, 12, 14, 15, 22, 23, 27, 31, 35 i 44 – prawidłowy skrót dla „według” to „ww.” a nie „w/w”;
- str. 8, 10, 12, 16, 19, 22, 24, 30, 43, 46, 48, 53, 63, 64, 66, 77, 80 i 91 – łącznik użyty zamiast myślnika;
- str. 8, 14 – kropka użyta zamiast przecinka jako separator dziesiętny w tekście w języku polskim;
- str. 10 – w ostatnim zdaniu rzeczownik „przedstawiciele” powinien być w mianowniku;
- str. 11 – jest „min.”, a powinno być „m.in.”;
- str. 14 – litera x użyta dwukrotnie zamiast znaku x;
- str. 14, 20, 22, 23, 24, 29, 39, 64 i 82-88 – jest skrót „wg.”, a powinien być „wg”, ponieważ słowo „według” i jego skrót kończą się tą samą literą;
- str. 15 – skrót „dr” w przypadku „dr Karela Janko” i „dr hab. Jana Kotusza” powinien kończyć się kropką, ponieważ słowo „doktora” i jego skrót kończą się różnymi literami;
- str. 23 – jeśli przyjąć, że okolica to teren okalający, to Cieśnina Kaletańska ma jedną okolicę (w tekście użyta jest liczba mnoga);
- str. 24 – w pierwszym zdaniu nieprawidłowa odmiana czterech ostatnich rzeczowników;
- str. 24 i 41 – jest „w porównaniu do”, a powinno być „w porównaniu z”;
- brak przecinków oddzielających obustronnie wtrącenia, np.
„Dyskusja o refugiach z których odbywała się rekolonizacja Europy w holocenie nie byłaby kompletna...” (str. 8)
lub poprzedzających zdanie podrzędne, np.
przed „co sugeruje” (str. 27), we fragmencie „sposób w jaki przebiegał” (str. 30), „miejsce gdzie może dochodzić do kontaktu” (str. 32), „(...) dostarczają sugestii nowych

kierunków badań (...) co może przyczynić się do lepszego zrozumienia nie tylko filogeografii badanych gatunków, ale również szerszych grup taksonomicznych – szczególnie iż część (...)” (str. 42) oraz „istnieje także szereg narzędzi które mogą” (str. 42);

- str. 28 – dla *C. elongatoides* raz użyty jest rodzaj żeński (u góry strony), a raz męski (na dole strony);
- str. 34 – „okres czasu” to tautologia;
- str. 34 – „(...) modeluje się ten sam organizm” wydaje się być nadmiernym skrótem myślowym;
- str. 39 – „na wysokości Zatoki Gdańskiej dołączył do niego kład 2-4” – najprawdopodobniej chodzi o kład 2-3;
- str. 40 – należy poprawić „wiec” na „więc”;
- str. 40 – „pomiędzy nim, a współczesnością” – zbędny przecinek;
- str. 40 – „Niewielkie nakładanie się zasięgów (...), koreluje się” – zbędny przecinek i „się”;
- str. 44 – błąd literowy w słowie „umożliwiających”;
- str. 55 – jest „12 lipiec”, a powinno być „12 lipca”;
- Tabela 1 – w tytule tabeli zbędne słowo „spis”;
- w spisie literatury oraz Suplemencie I nazwy gatunkowe i rodzajowe niezapisane kursywą. Dodatkowo w spisie literatury często epitet gatunkowy pisany wielką literą (podobnie „sp.”);
- w spisie literatury kilka przypadków niezachowania przyjętego formatu:
 - Badura i in. 2006 – brak kropki po inicjale imienia H. Wintera,
 - Boulton i in. 2001 – brak kropek po inicjałach imion,
 - Corral-Lou i in. 2022 – pełne imię podane dla ostatniego współautora,
 - Keith i in. 2020 – podano pełne imiona współautorów,
 - Rekovets i in. 2014 – podano pełne imiona współautorów,
 - Warren i in. 2014 – nieprawidłowy zapis inicjałów ostatniego współautora,
 - Zeng i in. 2016 – nieprawidłowy zapis inicjałów ostatniego współautora;
- podobnie w Suplemencie I:
 - Culling i in. 2006 – podano pełne imiona współautorów;

- niefortunnie, format przyjęty dla literatury zakłada przecinek przed spójnikiem „i”.

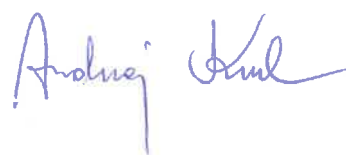
Podsumowanie

Stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymagania ustawowe, tj. stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego zarówno w sferze wyników, jak i w sferze metodycznej. Mgr Jacek Stefaniak nie obrał bezpiecznej ścieżki badań przyczynkowych, ale rozwiązał ważny problem biologiczny wykorzystując zestaw metod informatycznych, który sam w sposób twórczy komponował. Stworzył nową przestrzeń dla przyszłych badań własnych i zapewne innych badaczy.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska mgr. Jacka Stefaniaka spełnia wszelkie wymagania określone w art. 13 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 późniejszymi zmianami Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669).

Wobec powyższego składam wniosek do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego **o dopuszczenie mgr. Jacka Stefaniaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego**. Ponadto, biorąc pod uwagę bardzo wysoki poziom merytoryczny pracy **zwracam się z wnioskiem o stosowne wyróżnienie recenzowanej rozprawy**.



Łódź, 26 lipca 2023 r.