

dr hab. Piotr Bębas, prof. UW (on/jego)  
Zakład Fizjologii Zwierząt - Laboratorium Ekofizjologii i Ekoetologii  
Instytut Zoologii Doświadczalnej, Wydział Biologii UW  
ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa,  
tel.: +48 793 797 070 (prywatny), + 48 22 554 1030 (do pokoju)  
e-mail: piotrbe@uw.edu.pl

## Recenzja

**pracy doktorskiej mgr. Łukasza Gajdy pt.: „Pozycja troficzna wazonkowca białego (*Enchytraeus albidus*) w kontekście badań molekularnych” przygotowanej pod kierunkiem promotora, prof. dr. hab. Piotra Świątka i promotorki pomocniczej, dr hab. Agaty Daszkowskiej-Golec, prof. UŚ, w dyscyplinie: Nauki Biologiczne**

Recenzję przygotowałem w związku z powołaniem mnie przez **Radę Naukową Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach** w dniu 28.06.2024 roku do pełnienia funkcji recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk biologicznych w dziedzinie Nauki Ścisłe i Przyrodnicze, w dyscyplinie Nauki Biologiczne Panu mgr. Łukaszowi Gajdzie. Niniejsza recenzja ma za zadanie, zgodnie z art. 187 ust. 1 i ust. 2 Ustawy prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2023 poz. 742 z późn. zm.) ocenić, czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i czy stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

1. Czy osiągnięcia przedstawione w rozprawie doktorskiej stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego?

Oceniając dysertację mam pewność, że zawarte w niej informacje, przedstawione w trzech składających się na nią pracach naukowych, opublikowanych w liczących się czasopismach ze współczynnikiem oddziaływania IF, służą rozwiązaniu oryginalnego problemu naukowego. Dyplomant poświęcił swój wysiłek niezmiernie niszowym problemom, które bywają pomijane przez biologów eksperymentatorów, co najmniej z dwóch powodów – trudności w uzyskaniu finansowania projektów, które dotyczą

biologii organizmów niebędących modelowymi w badaniach (choć „modelowość” jest kwestią umowną, szczególnie, gdy mamy na uwadze badania środowiskowe i zestawiamy je z biomedycznymi), a także ze względu na brak narzędzi do wykonywania prac na takich organizmach. Właśnie w tej sytuacji, stosowanie odpowiedniej metodyki, jest kluczowe i stanowi wyzwanie dla badacza. Wymaga bowiem ponadprzeciętnych umiejętności i doświadczenia w stosowaniu powszechnie używanych technik, w takim stopniu, żeby śmiało wprowadzać w nie modyfikacje, a jednocześnie zachować ich przydatność, dla uzyskiwania wiarygodnych danych. Na tym polu Pan Łukasz wykazał się wyjątkową kreatywnością, co zaowocowało powstaniem tej bardzo dobrej rozprawy doktorskiej, której tematyka jest bezsprzecznie niszowa.

Wyniki przedstawione w trzech pracach naukowych, składających się na rozprawę doktorską, zostały już poddane recenzji przez grono specjalistów powołanych decyzją edytorów czasopism o dużym prestiżu. Zatem nie śmiałbym oceniać wartości tych danych z perspektywy fizjologa zwierząt, jakim jestem, choć także zajmuję się bezkręgowcami. Dlatego moją rolę recenzenta rozumiem, jako oceniającego formalną stronę dysertacji, w tym, czy wkład Dyplomanta w powstanie prac był na tyle istotny i czy nabył On takich kompetencji, które otwierają Mu drogę do uzyskania stopnia naukowego. Powinienem także określić, czy wartość artykułów stanowiących dysertację jest wystarczająco duża, by faktycznie wpływały one na inne od dotychczasowego postrzeganie biologii badanych organizmów. Zatem, czy mają szansę zmienić poglądy na utarte poglądy i skłaniać do dyskusji środowisko naukowe. W moim przekonaniu, nie mniej istotne jest ustalenie, czy Dyplomant potrafi samodzielnie prowadzić debatę naukową i konfrontować własne osiągnięcia z opiniami prezentowanymi w pracach już opublikowanych, a przede wszystkim krytycznie oceniać własne pomysły na tym tle.

Pod względem formalnym dysertacja spełnia warunki ustawowe dotyczące rozpraw doktorskich. W tej kwestii istnieje dość duża autonomia, co raczej nie dziwi, bo istotną jest merytoryczna strona badań, a nie sposób prezentowania uzyskanych wyników. Zatem Dyplomant, Pan Łukasz Gajda, postanowił podzielić rozprawę na trzy części. Pierwszą jest autoreferat składający się z kilku podrozdziałów. Najważniejszą część, drugą, stanowią trzy prace naukowe – pierwsza (w kolejności

przedstawienia), przeglądowa, ale uzupełniona wynikami ciekawych analiz, i dwie typowe tj. prezentujące oryginalne wyniki badań Dyplomanta oraz Zespołu, do którego należy i z którym pracował. W trzeciej części znajdziemy oświadczenia tychże Współautorek i Współautorów, w których znajdziemy deklaracje o wiodącym udziale Dyplomanta podczas powstawania każdej z prac, wchodzących w skład rozprawy.

### *O autoreferacie*

Autoreferat jest obszernym opracowaniem, w którym znajdziemy teoretyczne wprowadzenie do problemu badawczego, gdzie Autor określił hipotezy i wytyczył sobie cele, których realizacja prowadzi do weryfikacji tychże hipotez. Tu opisał metodykę użytą do wykonania analiz, i tu podjął próbę sformułowania wniosków, płynących z wyników uzyskanych w czasie realizacji projektu. Te wnioski przedstawił osobno dla zbiorów danych, pochodzących z kolejnych trzech prac, stanowiących rdzeń dysertacji.

Mając na względzie oryginalność rozwiązań problemu naukowego, do którego Dyplomant odnosi się w autoreferacie, oceniam tę sferę aktywności bardzo wysoko. Pan Łukasz jest doskonale obeznany w biologii pierścienic, w tym wazonkowców, nie tylko gatunku, który badał. Bardzo dobrze przedstawił wiedzę zakresem obejmującą anatomię funkcjonalną układu pokarmowego tych zwierząt. Uwzględnił dane o produkcji enzymów trawiennych powstających i uwalnianych przez różne odcinki jelita do jego światła. Bardzo ciekawie odnosi się do danych niepewnych, klarownie obrazując, co musi być zbadane, aby wiedza o tym układzie była pełniejszą. Naprawdę jestem pod dużym wrażeniem rozeznania Dyplomanta w literaturze tego przedmiotu, zarówno tej najnowszej, jak i najstarszej, sprzed kilkudziesięciu lat. Nie mam zastrzeżeń do przedstawienia pozycji systematycznej badanego gatunku, wazonkowca białego, *Enchytraeus albidus*. Dyplomant słusznie powołuje się na informacje, że gatunek wazonkowca białego w rzeczywistości tworzy kilka gatunków kryptycznych, a ich rozróżnienie jest najpewniejsze po zastosowaniu analiz kodu paskowego DNA, czyli barcodingu DNA. Dyplomant udowadnia w opisie tego, a raczej tych organizmów, że są one powszechnie używane w badaniach i mogą zostać uznanymi za modelowe. Z tą opinią trudno mi się zgodzić, gdy zestawili liczbę

dostępnych prac naukowych wykonanych na innych bezkręgowcach, takich jak *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Daphnia pulex*, *Daphnia magna*, nie wspominając już o kręgowcach. Niemniej zgodzę się, że do badań środowiskowych gleby, wazonkowce są wygodnymi i bardzo obiecującymi kandydatami do uznania ich za modele badawcze. Do czego bezdyskusyjnie przyczyniają się wyniki przedstawione w niniejszej dysertacji. Nie mam także wątpliwości, że wazonkowce są bardzo ważną grupą z perspektywy możliwego wykorzystania ich przez ludzi, jako źródła pokarmu dla zwierząt hodowlanych. Rynki, akwarystyczny – produkcji ryb ozdobnych, jak i ten nastawiony na masową produkcję ryb przez nas spożywanych, są bardzo chłonne tj. otwarte na innowacje dotyczące produkcji możliwie najtańszej i pełnowartościowej paszy. A wazonkowce wydają się spełniać te warunki.

Najwięcej uwagi, w części wprowadzającej autoreferatu, Pan Łukasz poświęcił sieciom troficznym w glebie, określając pozycję badanego gatunku pierścienicy, w tych sieciach. Jest to bardzo dobrze opracowana część rozprawy, dzięki zachowaniu ciągłości rozumowania, od krytycznej dyskusji informacji zawartych w cytowanych pracach, po osadzenie idei Dyplomanta w kontekście badań już zrealizowanych, ale nie zawsze prowadzących do jednoznacznych konkluzji. Ta część dysertacji doskonale wprowadza czytelnika do kolejnego podrozdziału – przedstawienia hipotez badawczych i celów, które wytyczają ścieżki postępowania, prowadzące do weryfikacji tych hipotez. Obie hipotezy są ze sobą ściśle powiązane, bo ich ocena miała za zadanie określić, czy wazonkowce białe są saprofitami drugiego rzędu w sieci troficznej gleby, w tym poprzez wykluczenie ich roli jako saprofitów pierwszego rzędu. Tu należy zaznaczyć, że poszukując odpowiedzi na stawiane pytania natury bardzo ogólnej – tych dotyczących sieci troficznej, Dyplomant przeprowadził bardzo dużą liczbę analiz. Dostarczyły one znacznie więcej danych niż te, niezbędne do walidacji hipotez. A wręcz można pokusić się o stwierdzenie, że cała dysertacja obejmuje wstępne analizy różnych aspektów biologii funkcjonalnej badanych zwierząt, związanych z adaptacją do życia w glebie, analizowanej poprzez kontekst ekspresji genów, powiązanych z regulacją konkretnych procesów fizjologicznych. Krótko mówiąc, Dyplomant dostarcza znacznie więcej informacji w każdej z prac stanowiących dysertację niż to konieczne, do weryfikacji hipotez.

Choć nie uważam, aby dobrym pomysłem było szczegółowe przedstawianie metod badawczych w autoreferacie, to nie chcę robić z tego powodu zarzutów Dyplomantowi. Jak już wspominałem, ta część jest autorskim opisem prac eksperymentalnych i liczy się ostateczny rezultat, a ten jest imponujący. Pan Łukasz szczegółowo przedstawił te metody, których opis znajdziemy w załączonych publikacjach, zatem i tak dowiadujemy się o nich w innej części rozprawy. Na pewno za plus można policzyć to, że opisy metodyczne, są bogato ilustrowane i bardziej szczegółowe niż w publikacjach oraz idealnie powiązane z kontekstem rozwiązywanych problemów. Dzięki temu podrozdziałowi łatwiej zrozumieć idee, przyświecające Dyplomantowi, na każdym etapie wcielania w życie pomysłów. Odnosząc się do oryginalności rozwiązań przedstawianych w rozprawie doktorskiej, co jest wymogiem ustawowym dla tego typu prac, muszę podkreślić wyjątkową kreatywność Dyplomanta. Przeprowadzenie analiz transkryptomu, które objęło między innymi jego składowanie i dopasowanie, co jest procesem bardzo wymagającym, Pan Łukasz zaplanował i wykonał samodzielnie, co nie jest częstą praktyką. Ponadto, celem wykonania tych analiz, opracował strumień działań tj. kolejność etapów korzystania z różnych platform informatycznych, opierając swe prace informatyczne na korzystaniu ze środowiska Windows, co jest raczej unikatowe; większość badaczy, zajmujących się proteomiką i transkryptomiką używa mniej znane i mniej przyjazne, dla zwykłego użytkownika, środowisko Linux. Te opracowane przez Dyplomanta ścieżki, służące do analizom transkryptomu z powodzeniem mogą być w przyszłości wykorzystane przez inne zespoły. Zatem nie mam najmniejszych wątpliwości, że prezentowane w dysertacji rozwiązania cechuje znacząca innowacyjność i są tym samym oryginalnym, w pełni nowym rozwiązaniem ważnego problemu naukowego, choć w tym przypadku natury technicznej.

Ostatnia część autoreferatu, zgodnie z intencją Dyplomanta, miała stanowić podsumowanie, a konkretnie składać się z wniosków, w osobnych zbiorach, przyporządkowanych do każdego z artykułów, tworzących dysertację. Moim zdaniem to zamierzenie udało się zrealizować tylko w przypadku pierwszej pracy, przeglądowej, uzupełnionej o dane eksperymentalne. W zbiorze dla pracy drugiej znajdujemy zaproponowane przez Autora wnioski, ale także wypisane osiągnięcia, czyli *de facto* wyniki. W przypadku pracy trzeciej, znajdziemy wyłącznie wyniki badań. I choć są one wypunktowane i syntetycznie przedstawione, to nadal

pozostają zgrabnie opisanymi, najważniejszymi rezultatami prac Dyplomanta.

Dlatego w czasie obrony, chciałbym prosić o bardzo syntetyczne przedstawienie najważniejszych wniosków, które można wyciągnąć z artykułów, drugiego i trzeciego.

Ostatnie akapity autoreferatu Doktorant poświęca przede wszystkim odniesieniu własnych wyników do artykułu, który ukazał się (został opublikowany) niemal w tym samym czasie co druga praca, włączoną do rozprawy doktorskiej. Jest to artykuł – rezultat prac międzynarodowego zespołu z Rosji, Chin i Niemiec, opublikowany na łamach *Soil Biology and Biochemistry*. Zaproponowane w tym doniesieniu wyjaśnienia, na temat pozycji wazonkowców w sieciach troficznych gleby, jest w dużej mierze spójne z wynikami Pana Łukasza. Natomiast wysoką wartość wniosków płynących z obu prac, podkreśla zupełnie inny wachlarz metod użytych przez oba Zespoły do weryfikacji słuszności bardzo podobnych hipotez. Dojrzała dyskusja wyników zawartych w dysertacji, na tle tak aktualnych doniesień ponownie utwierdza mnie, że Pan Łukasz jest pasjonatem, który skrupulatnie analizuje, co dzieje się na świecie w zakresie interesującej Go problematyki.

Czego mi brakuje w autoreferacie, jako integralnej części rozprawy? Dyplomant dużo uwagi poświęcił badaniom molekularnym na poziomie transkrypcji genów kodujących enzymy trawienne. Solidnie opracował dane dotyczące pozycji ekologicznej badanych pierścieni. Niemniej, bardzo mi brakuje odniesień do złożonych, pełnych informacji opracowań, dotyczących pozycji ewolucyjnej zwierząt, które badał. Ta część rezultatów, skądinąd stanowiąca znaczną część obu oryginalnych prac tworzących dysertację, została potraktowana po macoszemu w autoreferacie.

Dlatego prosiłbym Pana Łukasza o pochwalenie się osiągnięciami w tym zakresie, podczas publicznej obrony. Zwyczajnie szkoda, żeby nie eksponować tak wartościowych materiałów, przy każdej nadarzającej się okazji, którymi można by obdarować znacznie więcej artykułów, niż to zrobił Dyplomant.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr. Łukasza Gajdy stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Dyplomant przeprowadził dużą liczbę bardzo dobrze zaplanowanych eksperymentów, które dostarczają nowe, nieznane nauce dane, z zakresu biologii wazonkowców. Do realizacji celów zastosował adekwatne metody analityczne, co gwarantuje, że uzyskane wyniki są wiarygodne, a

przygotowane na ich podstawie publikacje wejdą do kanonu prac, o dużym wpływie na wiedzę o tych zwierzętach.

2. Czy rozprawa doktorska ma istotny wkład w dyscyplinę?

*O pracach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej*

Oceniam, że cała dysertacja ma istotny wkład w rozwój dyscypliny Nauki Biologiczne. Z oczywistych powodów ocenie w tym kryterium, muszą podlegać składające się na nią prace naukowe, z perspektywy ich potencjalnego wpływu na poglądy naukowe środowiska zajmującego się zagadnieniami takimi, jakie w swojej karierze wybrał Doktorant. Także tu, nie mam wątpliwości, iż każda z publikacji jest bardzo dobra. Ukazały się one na łamach trzech czasopism, (1) *Pedobiologia* – zajmującym 72 percentyl w kategorii Agricultural and Biological Sciences - Ecology, Evolution, Behavior and Systematics, (2) *Biochimie* – zajmującym 69 percentyl w kategorii Biochemistry, Genetics and Molecular Biology - Biochemistry i (3) *International Journal of Molecular Sciences* – zajmującym 90 percentyl w kategorii Chemistry - Inorganic Chemistry (przedstawione wartości percentyli zaczerpnąłem z kategorii Scopus, w których czasopisma mają najwyższą pozycję). Także współczynniki oddziaływania IF czasopism, w których opublikowano artykuły z Dyplomantem jako współautorem, są wysokie – *Pedobiologia*, 2,00, *Biochimie*, 3,30, a *International Journal of Molecular Sciences*, 4,90. Powyższe wartości, obu parametrów oceny czasopism, wskazują również, że są one dobre lub bardzo dobre, w odniesieniu do selekcji (prawdopodobnie bardzo restrykcyjnej) publikowanych na ich łamach prac. Dodatkowo, mając doświadczenie w publikowaniu doniesień dotyczących niszowych zagadnień, wiem że ich prezentowanie bywa bardzo trudne na łamach czasopism o dużej poczytności, często faworyzujących panujące trendy w nauce. A badania Dyplomanta można uznać za reprezentujące właśnie niszową dziedzinę. Dlatego także w tym wymiarze wyrażam podziw dla Jego osiągnięć. Za bardzo ważne uważam to, że każda z prac w dysertacji, nie tylko zawiera gargantuiczną liczbę danych, ale są to bardzo obszerne artykuły pod względem ilości zawartych informacji tj. są niezmiernie bogate w treści. Dyplomant ma ewidentnie podejście ekofizjologiczne do prezentowanych problemów, a informacje uzyskane dzięki wykorzystaniu wielu złożonych technik analitycznych traktuje jako narzędzia do

realizacji celów dotyczących organizmów i ich pozycji w ekosystemie, jakim jest gleba. Zatem, ten ogrom danych molekularnych, które prezentuje w publikacjach, to materiały opracowane, aby poddać pod dyskusję problematykę w znacznie szerszym kontekście niż tylko identyfikacja i przedstawienie transkryptomów lub określenie celowości ekspresji wybranych genów. Takie podejście bardzo doceniam, bo dokonania Pana Łukasza na pewno spotkają się z szerokim zainteresowaniem wielu uczonych i tym samym są niemałym wkładem w rozwój nauk biologicznych.

Jak wspomniałem wcześniej, moja rolą nie jest recenzowanie prac badawczych już ocenionych przez specjalistów, szczególnie gdy są one opublikowane w bardzo dobrych czasopismach. Niemniej z przyjemnością, podsumowując, uznaję, że każda z nich stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny naukowej Nauki Biologiczne. Tym samym nie mam żadnych wątpliwości, że rozprawa stanowi podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora w dziedzinie Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, w dyscyplinie naukowej Nauki Biologiczne.

Oczywiście rolą recenzenta jest także sprawdzenie, formy wypowiedzi i edytorskiej strona pracy. I tu także nie mam wielkich zastrzeżeń, poza rażącymi mnie zapożyczeniami z j. angielskiego, których raczej nie powinno się używać w oficjalnych, polskich dokumentach, a dysertacja takim właśnie jest. Przykłady:  
- „... DNA zwalidowano za pomoc kontrolnych reakcji PCR, które **targetowały gen...**”,  
- „... startera oligo(dT)20 **targetującego transkrypty** poliadenylowane...”,  
- „**Asemlacja** transkryptomu metodą *de novo*.”,

Właściwie cała część metodyczna jest pełna tego typu określeń dla używanych narzędzi, co zapewne biologa molekularnego w czystej postaci nie razi, ale innych biologów, nawet powszechnie stosujących techniki molekularne, może lekko irytować.

Prosiłbym także Doktoranta o wyjaśnienie dwóch kwestii:



- pod ryciną 4. znajdziemy stwierdzenie, że „Kolorem różowym zaznaczono obszar sekwencji zawierający **prawie 8 ostatnich kodonów** otwartej ramki odczytu” – proszę o wyjaśnienie słowa „prawie”.

- druga sprawa dotyczy informacji dotyczących narzędzi i metod składania transkryptów – na stronie 26. Doktorant pisze: „Ustanowiony potok umożliwił również złożenie transkryptomów z publicznie dostępnych, surowych odczytów RNA-Seq dla genetycznie zróżnicowanych szczepów *E. albidus* tolerujących zamrażanie (de Boer i in., 2018) (stanowiły „referencje krzyżowe” dla szczepu PL-A) oraz dla innych przedstawicieli pierścienic.”. Z tego opisu wynika, że ustanowiony potok działań był już wykorzystywany, a wyniki badań doczekały się publikacji w pracy de Boer i in., 2018 w *Ecology and Evolution*. Przy takim opisie zaczynam mieć wątpliwości, do w pełni autorskiego charakteru technik informatycznych opracowanych przez Dyplomanta, które zrobiły na mnie tak duże wrażenie, gdy zapoznawałem się z innymi podrozdziałami części metodycznej zarówno autoreferatu, jak i w publikacjach. Jeśli nawet ten potok został wcześniej wykorzystany, to dlaczego Pan Łukasz nie jest współautorem pracy z 2018 roku? Proszę o wyjaśnienie tych kwestii.

Uwaga do wniosków nr 2 i 3, na stronie 26 – zupełnie kosmetyczna. Dyplomant pomieszał sposób oznaczania genów i białek. Geny zwykle zapisujemy kursywą, a białka prostym tekstem. Poza tym gen nie jest białkiem, w tym przypadku amylazą. Są to jednak mało istotne uchybienia.

### 3. Wnioski końcowe

Kończąc, stwierdzam, że rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a jej treść jednoznacznie potwierdza, że Autor posiadał ugruntowaną wiedzę, zarówno ogólną, jak i szczegółową, w zakresie biologii badanej grupy zwierząt oraz bardzo ważną umiejętność samodzielnego zadawania pytań badawczych, formułowania hipotez, planowania oraz prowadzenia pracy naukowej. Dlatego dysertacja spełnia wymogi określone w art. 187 ust. 1 i ust. 2 Ustawy prawo o szkolnictwie wyższymi nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (z późn. zm.). **W związku z tym, z pełnym przekonaniem, wnioskuję o dopuszczenie Pana mgr. Łukasza Gajdy do dalszych etapów postępowania doktorskiego.**

Jednocześnie zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach **o poparcie mojego wniosku o wyróżnienie Pana mgr. Gajdy stosowną nagrodą, przewidzianą regulaminem Uniwersytetu** (zarządzenie JM Rektora UŚ nr 188/2021), za najlepsze rozprawy doktorskie.

Warszawa, 31 sierpnia 2024 r.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'B. Gajda', is written on a light blue grid background.