



Wrocław, 10 maja 2019r.

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Lis  
pt. „Wpływ temperatury na konkurencję pomiędzy *Heterorhabditis megidis*  
a *Steinernema* spp. (Nematoda: Rhabditida)”**

wykonanej w Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN, ICBN, Katolickiego

Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II;

promotor rozprawy: **dr hab. Dariusz Skarżyński, prof. UWr**

promotor pomocniczy **dr Waldemar Kazimierczak**

Informacje wstępne:

Przedstawiona do oceny praca dotyczy biologii i ekologii entomopatogenicznych nicieni, będących obligatoryjnymi i letalnymi pasożytami owadów. Doktorantka skupia się na przedstawicielach rodzaju *Steinernema* oraz *Heterorhabditis megidis*. Nicienie te charakteryzują się wysokim poziomem patogeniczności względem różnych rzędów owadów, przez co są wykorzystywane jako czynniki ograniczające liczebność populacji owadów, zarówno w warunkach naturalnych jak i użytkowych. Praca ma charakter doświadczalny – w warunkach kontrolowanych testowana była zdolność nicieni do zachowań konkurencyjnych w gradiencie temperaturowym. Dodatkowo Autorka badała wpływ temperatury (jako jednego z najważniejszych czynników abiotycznych, wpływających na procesy życiowe organizmów) na infekcyjność, patogeniczność czy stopień skolonizowania.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki potwierdzają istotność temperatury jako czynnika regulującego konkurencyjność pomiędzy nicieniami entomopatogenicznymi, będąc jednocześnie jednym ze środowiskowych czynników umożliwiających partycjonowanie zasobów pokarmowych.



Konstrukcja rozprawy doktorskiej oraz ocena formalna pracy:

Przedstawiona do oceny praca ma formę maszynopisu, z układem typowym dla takich opracowań. Co prawda nie bardzo rozumiem ideę odrębności rozdziału „Wstęp” (liczącego 2 strony) oraz rozdziału „Przegląd badań” (będącego właściwym wstępem), pomiędzy którymi znajduje się rozdział „Cel badań”, jest to jednak ocena czysto subiektywna. Całość pracy liczy 125 stron, włączając streszczenia polskie i angielskie, bibliografię oraz załączniki. Cytowana literatura to ponad 280 (!) pozycji, co świadczy o bardzo dobrym rozeznaniu się Doktorantki w tematyce swoich badań, co jeszcze bardziej uwidacznia się podczas czytania maszynopisu. Pod względem wizualnym i graficznym oceniana praca jest starannie przygotowana. Konstrukcja zdań oraz umiejętność logicznego formułowania myśli również nie budzi zastrzeżeń. Owszem, zdarzają się delikatne potknięcia czy literówki, jak rozpoczynanie zdania od skrótu nazwy rodzajowej czy spektrum pisane przez „c”, ale przy tak obszernym opracowaniu są one trudne do uniknięcia.

Ocena merytoryczna pracy:

Uzyskane przez mgr Magdalenę Lis wyniki powstały w oparciu o badania eksperymentalne/doświadczalne, a co za tym idzie rzetelność takich wyników zależy od przede wszystkim od prawidłowo skonstruowanych doświadczeń. W tym aspekcie praca spełnia wszystkie wymogi, Doktorantka bardzo szczegółowo opisuje planowanie eksperymentów a uzyskane wyniki prezentuje w sekwencji adekwatnej do podrozdziałów przedstawionych w sekcji „Materiał i metody”, co ułatwia czytanie pracy. Jednakże rolą recenzenta jest również znajdowanie różnych potknięć i uchybień, dlatego też poniżej przedstawię te najbardziej istotne:

- czytając rozdział „Materiał i metody” dowiadujemy się, że „Jako żywiciela zastępczego użyto gąsienic G.” [sic!]; w dalszej części tekstu pojawia się jeszcze zapis *G. mellonella* odnośnie żywiciela, ale nigdzie w całej pracy nie znalazłem pełnej nazwy owada (poza streszczeniem), a gdzieśgdzie można natknąć się na nazwę wernakularną (barciak większy). W moim odczuciu w rozdziale „Materiał i metody” należało przedstawić krótką charakterystykę gatunku owada wykorzystywanego w doświadczeniach;



- w rozdziale „Materiał i metody” na stronie 32 Doktorantka podaje, że identyfikacja larw nicieni była dokonywana, między innymi, przy użyciu markerów molekularnych cyt. „analiza sekwencji ITS1 i ITS2 16S rDNA”; 16S rDNA jest komponentem małej podjednostki rybosomalnej (30S) organizmów prokariotycznych, podczas gdy u organizmów eukariotycznych (a takimi są nicienie) małą podjednostkę tworzy 18S rDNA. Ponadto, wewnętrzne transkrybowane sekwencje (ITS) występują pomiędzy 18S i 5.8S rDNA (ITS1) oraz 5.8S i 28S rDNA (ITS2) więc cały powyższy zapis nie jest logiczny;
- w rozdziale „4.12 Analiza statystyczna” została zamieszczona informacja, że: „[...] dane [...] poddano spierwiastkowaniu i transformacji arcsin.” Dlaczego akurat taka transformacja? Zakładam, że Doktorantka to wie, ale warto było również napisać to w pracy;
- na stronie 53 w Tabeli 2 pojawiają się ujemne wartości 95% przedziału ufności, co dla danych takich jak czas nie wygląda zbyt dobrze, istnieje szereg metod obliczenia 95% CI, które umożliwiają uniknięcie wartości ujemnych;
- w pracy, na wielu stronach, pojawia się określenie „larwy infekcyjne”; natomiast w odniesieniu do nicieni entomopatogenicznych, podobnie jak w przypadku pasożytniczych, powinno się używać sformułowania larwy inwazyjne;
- w części mikrobiologicznej pracy można było zamieścić ryciny obrazujące strefy zahamowania wzrostu bakterii;
- na koniec jeszcze jedna kwestia, która jest zdecydowanie polemiką a nie zarzutem, Doktorantka wykazuje, że temperatura jest jednym z ważniejszych czynników regulujących/wpływających na interakcje pomiędzy EPN, a następnie wyciąga wniosek, że tę właściwość można wykorzystać w zabiegach ochrony roślin. Nie wiem, czy nie jest to na tym etapie trochę zbyt pochopne stwierdzenie, czy pomimo nie do końca wyjaśnionych mechanizmów interakcji (zapewne nie tylko temperatura odgrywa istotną rolę) oraz przy stosunkowo ograniczonej reprezentacji EPN, można wysnuwać taki wniosek.



Przedstawione wyżej uwagi nie są powodem do umniejszania wartości pracy, natomiast mogą być pomocne przy przygotowywaniu publikacji, które moim zdaniem powinny powstać na bazie tego maszynopisu. Doktorantka bowiem zmierzyła się z trudnym zadaniem, jakim jest próba uchwycenia i wykazania interakcji pomiędzy EPN a czynnikami środowiskowymi. Pani mgr Magdalena Lis sama utrzymuje, że uzyskane przez nią wyniki są niepełne i sugerują ponadto, że interakcje pomiędzy symbiontami nicieni *in vitro* i *in vivo* różnią się. Jestem przekonany, że na bazie obecnych wyników można planować dalsze eksperymenty i zgłębiać w dalszym ciągu wiedzę na temat biologii i ekologii EPN.

Podsumowanie i konkluzja:

Czytając pracę Pani mgr Magdaleny Lis widać ogrom pracy włożony w jej powstanie. W czasach, kiedy wyniki oparte głównie na warsztacie biologii molekularnej „produkuje się” na masową skalę, coraz mniej jest prac o charakterze eksperymentalno-obszernym, a to one były i pewnie w dalszym ciągu będą źródłem inspiracji i tworzenia hipotez o szerszym ogólnobiologicznym znaczeniu dla kolejnych pokoleń. Doktorantka, poprzez swoją pracę, pokazała, że potrafi odnaleźć problem badawczy i poprzez poprawnie skonstruowany plan badań go rozwiązać.

Uważam, że oceniana praca spełnia wszystkie wymogi formalne, zawarte w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. „O stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki” (wraz późniejszymi zmianami; Dz.U. z 2017 r., poz. 1789), stawiane rozprawom doktorskim i dlatego z pełnym przekonaniem wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Lis do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

/dr hab. Grzegorz Zalesny/