

Dr hab. Katarzyna Smolarz, prof. UG
Instytut Oceanografii, Wydział Oceanografii i Geografii
Uniwersytet Gdański
Al. Piłsudskiego 46
81-378 Gdynia

Recenzja

Pracy doktorskiej mgr Anny Prączyńskiej pt. „Biogeografia omułek *Mytilus* i identyfikacja pochodzenia geograficznego ich produktów żywnościowych z zastosowaniem metod genetycznych (analiza polimorfizmu pojedynczych nukleotydów)” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Romana Wenne z Instytutu Oceanologii Polskiej Akademii Nauk oraz dr Ryszarda Frankowskiego (jako promotora pomocniczego) z Szkoły Podstawowej nr 85 w Gdańsku.

Przedstawiona mi do zaopiniowania praca doktorska to opracowanie opisujące wykorzystanie polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP) w taksonomii molekularnej oraz do analizy zróżnicowania genetycznego naturalnych populacji omułek (m.in. *Mytilus galloprovincialis*, *M. edulis*, *M. trossulus*), pochodzących z rejonu Morza Śródziemnego, Morza Czarnego, Oceanu Atlantyckiego, Oceanu Indyjskiego, Morza Marmara oraz Morza Azowskiego. Dodatkowo, w ramach pracy zweryfikowano przynależność gatunkową oraz pochodzenie geograficzne 21 prób omułek (491 małży) zakupionych jako próby żywności m.in. w Polsce, Włoszech, Hiszpanii czy Niemczech. Z uwagi na ogromne znaczenie omułek zarówno w kontekście ekologicznym jak i ekonomicznym, opracowanie zestawu loci SNP do precyzyjnej identyfikacji poszczególnych gatunków z rodziny Mytilidae, możliwych do wykorzystania zarówno w badaniach nad populacjami naturalnymi jak i tych oferowanych jako żywność, idealnie wpisuje się w rosnącą potrzebę dalszego oszacowania zróżnicowania genetycznego populacji omułek oraz weryfikacji taksonomicznej ich produktów żywnościowych. Na bazie uzyskanych wyników powstały dwie publikacje naukowe, obie opublikowane w prestiżowych czasopismach z Listy Filadelfskiej (The European Zoological Journal (IF 1,699 z 2021r) oraz Aquaculture (IF 5,135 z 2022)), obie wieloautorskie, w których Doktorantka jest współautorką (uloowaną na miejscu trzecim (The European Zoological Journal) oraz drugim (Aquaculture) listy autorów). Godnym uznania jest fakt, że recenzowana praca doktorska powstała w ramach realizacji stypendium w programie „Doktorat Wdrożeniowy” Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Charakterystyka pracy. Praca, napisana w języku polskim, liczy łącznie 135 stron (włączając literaturę i załącznik) oraz zawiera 26 rysunków i 12 tabel (11 tabel w podstawowej wersji tekstu i jedną tabelę w postaci załącznika) dobrze ilustrujących przedstawione wyniki badań. Dyktacja składa się z 9 rozdziałów, a mianowicie wstępu wprowadzającego w tematykę badawczą i charakteryzującego rodzaj *Mytilus*; opisu sposobu pozyskania materiału do badań oraz zastosowanych metod badawczych;

wyników zróżnicowania genetycznego populacji *M. galloprovincialis* z Morza Śródziemnego, Morza Czarnego oraz wybrzeży Południowej Afryki wraz z opisem analizy taksonomicznej i pochodzenia geograficznego żywności w postaci zakupionych prób omułka; po których następuje dyskusja zakończona wnioskami. Dodatkowo, praca zawiera Streszczenie w języku polskim, Abstract w języku angielskim, spis literatury (168 pozycji) oraz załącznik w postaci tabeli 11. Pozycje bibliograficzne są dobrze dobrane i związane z tematyką przedstawionej mi do oceny pracy doktorskiej.

Rozdział 1: Streszczenie (w języku polskim) **oraz Rozdział 2: Abstract** (w języku angielskim). Oba rozdziały w sposób zwięzły dobrze podsumowują uzyskane wyniki i dyskusję oraz przedstawiają najważniejsze wnioski.

Rozdział 3: Wstęp. Celem tego rozdziału jest syntetyczne przedstawienie wiedzy z zakresu biologii i ekologii rodzaju *Mytilus*, zwrócenie uwagi na podobieństwo morfologiczne poszczególnych gatunków omułków wchodzących w skład rodzaju *Mytilus* i związane z tym problemy identyfikacyjne poszczególnych gatunków, podkreślenie bipolarnego rozmieszczenia geograficznego, stref hybrydyzacji poszczególnych gatunków, ich hodowli oraz rozmieszczenia współczesnych populacji *Mytilus* spp. w Oceanie Światowym i *M. galloprovincialis* w Północnym Atlantyku. Podsumowując, rozdział ten bardzo dobrze ilustruje zasadności i znaczenie podjętych przez Doktorantkę badań oraz racjonalizuje przeprowadzenie badań z zakresu zróżnicowania genetycznego populacji wybranych gatunków rodzaju *Mytilus*. Zarówno w tej części, jak i w dwóch poprzednich, Doktorantka nie ustrzegła się jednak przed szeregiem literówek. Dodatkowo, w tej części pracy pojawiło się, moim zdaniem, kilka dość niefortunnych sformułowań takich jak „...cechy morfologiczne nie są markerami diagnostycznymi i pozwalają jedynie na porównawcze różnicowanie statystyczne..” (Rozdział 3.2.1.). Wydaje mi się, że cechy morfologiczne w tym wypadku mogą pełnić funkcję markerów taksonomicznych pozwalających na przyporządkowanie danego organizmu do konkretnego gatunku, co u blisko spokrewnionych i morfologicznie identycznych gatunków jest prawie niemożliwe. W rozdziale 3.2.3. Doktorantka, opisując sposób odżywiania omułków, zwraca uwagę na fakt, że „...dzięki takiemu sposobowi odżywiania się omułki przetwarzają zawieszinę morską w detrytus osadzony na dnie oraz wysokowartościowy pokarm białkowy, który może zostać wykorzystany przez zwierzęta i człowieka”. Takie sformułowanie jest, moim zdaniem, dość niefortunnym skrótem myślowym. Omułki odżywiają się filtrując, a pobrany pokarm, w postaci energii, wykorzystują do prowadzenia podstawowych funkcji życiowych (metabolizują, rosną, rozmnażają się). Część niestrawiona ulega wydaleniu (co pewnie jest owym detrytusem osadzonym na dnie) i opada na dno, a same omułki mogą stanowić pokarm dla niektórych ryb czy ptaków morskich. W rozdziale 3.2.3. Doktorantka zwraca też uwagę na fakt, że „...zróżnicowanie zasiedlanego środowiska wywiera duży wpływ na kształt, rozmiar i ubarwienie muszli...”. Chciałam się jednak dopytać, czy tylko zróżnicowanie środowiskowe ma wpływ na parametry jakościowe muszli? Jakie jeszcze czynniki mogą brać udział w formowaniu muszli u rodzaju *Mytilus*? Dodatkowo, w rozdziale 3.3 (Ekologia *Mytilus*), Doktorantka zwraca uwagę na korelację pomiędzy gradientami środowiskowymi i zmianami częstości występowania alleli, co z kolei sugeruje działanie czynników selekcyjnych. Oprócz wymienionych poniżej (działanie fal, temperatury, obecności metali ciężkich czy zasolenia), jakie jeszcze inne czynniki środowiskowe mogą wpływać na lokalne zmiany zróżnicowania genetycznego w naturalnych populacjach małży morskich? W tym samym rozdziale Doktorantka zwraca uwagę, że „...translokacja osobników może spowodować zatarcie różnic fenotypowych i genotypowych gatunków...”. Jakie konkretnie różnice na poziomie fenotypowym (na jakich poziomach organizacji biologicznej) mogą ulec zatarciu w populacjach blisko spokrewnionych gatunków prawie identycznych morfologicznie? W rozdziale 3.3.1. (Strefy hybrydyzacji *Mytilus*),

znajduje się także sformułowanie, że hybrydyzacja może mieć negatywny wpływ na hodowle omułków. Jednak, u niektórych gatunków hodowlanych hybrydyzację pomiędzy dwoma spokrewnionymi gatunkami prowadzi się w warunkach laboratoryjnych, właśnie aby zwiększyć sukces hodowlany ze względu na pewną przewagę mieszańców nad populacjami macierzystymi (sytuacja taka ma miejsce np. w przypadku słuchotków *Haliotis* spp.). Jestem ciekawa zdania Doktorantki na ten temat. Przy okazji, chciałam też zwrócić uwagę na pewną poprawność cytowania, a mianowicie wykorzystanie źródeł literaturowych, w tym publikacji własnych. W rozdziale 3.5.2 (Pochodzenie *Mytilus*...), w zdaniu (...Po kolonizacji przez *Mytilus edulis* napływ wód z Oceanu Atlantyckiego do dzisiejszego Morza Śródziemnego był okresowo ograniczany lub odcinany głównie ze względu na wahania poziomu morza na zachód od Cieśniny Gibraltarskiej, ale również powodu zmian tektonicznych (Wenne i in., 2022b)”. Przytoczona tutaj publikacja, będąca z resztą także publikacją wyników pochodzących z ocenianej pracy, stosuje metody genetyki krajobrazowej do analizy zróżnicowania genetycznego populacji omułków, a nie przedstawia wyniki dotyczące analiz okresowego napływu wód z Oceanu Atlantyckiego czy też samych zmian tektonicznych, które to dane pochodzą zapewne ze źródeł innych.

Rozdział 4: Cele pracy. W tym rozdziale w sposób zwięzły przedstawiono pięć głównych celów pracy doktorskiej. Cele sformułowane zostały jasno i klarownie, i oddają zakres pracy przytoczony w ocenianej Dysertacji. W kontekście dwóch ostatnich celów pewien niepokój może budzić fakt, że, próbki małży do badań, jak wynika z opisu materiałów wykorzystanych do badań (Tabela 7), były zbierane dość okazjonalnie, w różnych przedziałach czasowych.

Rozdział 5: Materiał i metody. Ta część pracy jest wyjątkowo skrótowo opisana, i skupia się głównie na analizie bioinformatycznej. Szczegóły przeprowadzonych analiz bioinformatycznych są przejrzyste przygotowane, natomiast część dotycząca samego poboru prób wymagałaby naniesienia korekty. Moim zdaniem część materiałów opisanych dalej, w rozdziale 6 (Wyniki), także powinna zostać przeniesiona do rozdziału Materiał i metody, gdyż są to części pracy opisujące pozyskanie i charakterystykę materiału badawczego. W szczególności komentarz powyżej dotyczy całego rozdziału 6.1.1 (Materiał badawczy) wraz z Rys. 6 oraz Tabelą 1; rozdziału 6.2.1 (Materiał) wraz z Rys. 16 i Tabelą 4 a także rozdziału 6.3.1 (Charakterystyka badanych prób) wraz z Tabelą 7 i Rys. 26. Rysunki 6, 16 i 26 przedstawiają mapy, skąd pozyskany został materiał do badań zarówno dotyczących zróżnicowania genetycznego i taksonomii populacji naturalnych, jak i prób żywnościowych. Tabele 1 i 4 przedstawiają w sposób szczegółowy listę prób *Mytilus* spp. przeanalizowanych podczas badań prowadzonych przez Doktorantkę, i przedstawiają następujące dane: skrót miejsca próbkowania, miejsce poboru próby wraz ze współrzędnymi, kraj oraz ilość osobników wzięta do badań. Podobnie, w Tabeli 7 przedstawiono podstawowe informacje dotyczące pochodzenia materiału żywnościowego. W szczególności, w tabeli tej przedstawiono informacje dotyczące ilości małży wziętych do analiz, rodzaju produktu, miejsca zakupu próbki, nazwy produktu czy też kraju pochodzenia próby.

Rozdział 6: Wyniki. Ta część pracy podzielona została na trzy główne rozdziały opisujące zróżnicowanie genetyczne populacji *M. galloprovincialis* w przybrzeżnych wodach Morza Śródziemnego (Rozdział 6.1), polimorfizm genetyczny populacji *M. galloprovincialis* z wybrzeży Południowej Afryki (rozdział 6.2) oraz wyniki analiz taksonomicznych i pochodzenia geograficznego prób żywnościowych zawierających omułki *Mytilus* spp. dostępne w Europie. Każdy z wyżej wymienionych rozdziałów został podzielony na kilka (od dwóch do sześciu), podrozdziałów. W numeracji podrozdziałów Rozdziału 6.2 wkraść się błąd, i zarówno w Spisie treści, jak i w samej pracy. Podrozdział 6.2.1 figuruje jako Materiał (strona 61) oraz jako Charakterystyka SNP (strona 64). Ważny

z mojej perspektywy jest jednak fakt, że Doktorantka przygotowała syntetyczną analizę wyników, która została dobrze zilustrowana zarówno w formie rysunków, jak i tabel.

Zwracam także uwagę, że część wyników pracy została już opublikowana w dwóch, przytoczonych przez Doktorantkę na początku pracy, publikacjach (1. Wenne, R., Zbawicka, M., Prądzińska, A., Kotta, J., Herkül, K., Gardner, J.P.A., Apostolidis, A.P., Poćwierz-Kotus, A., Rouane-Hacene, O., Korrida, A., Dondero, F., Baptista, M., Reizopoulou, S., Hamer, B., Sundsaasen, K.K., Árnýasi, M., Kent, M.P. 2022. Molecular genetic differentiation of native populations of Mediterranean blue mussels, *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819, and the relationship with environmental variables. The European Zoological Journal. 89, 755-784. oraz 2. Wenne, R., Prądzińska, A., Poćwierz-Kotus, A., Larraín, M.A., Araneda, C., Zbawicka, M. 2022. Provenance of *Mytilus* food products in Europe using SNP genetic markers. Aquaculture. 554, 738135.). Co za tym idzie prace te przeszły przez system recenzji w wyżej wymienionych czasopismach, stąd też pozwoliłam sobie nie recenzować opublikowanej już części pracy. Mam jednak prośbę o doprecyzowanie sformułowania z początku pracy, przytoczonego przez Doktorantkę (strona 7), a mianowicie „*Na bazie części wyników uzyskanych w pracy doktorskiej (rozdziały 1 i 3) zostały przygotowane 2 publikacje*”. Rozdziały 1 i 3 recenzowanej pracy to Streszczenie (Rozdział 1) oraz Wstęp (Rozdział 3), a w ww. publikacjach znajdują się wyniki z rozdziałów 6.1 oraz 6.3 części Wyniki. Odnośnie Rozdziału 6.2, wszystkie próby z rejonu południowej Afryki pochodziły z Republiki Południowej Afryki (RPA). Skala geograficzna, moim zdaniem, powinna zostać doprecyzowana (zarówno w Celach badań, Dyskusji jak i w Rozdziale 6.2), gdyż kraje takie jak Namibia, Mozambik czy Madagaskar też geograficznie można uznać jako południowo afrykańskie.

Rozdział 7: Dyskusja składa się z trzech części omawiających zróżnicowanie genetyczne rodzimych populacji *M. galloprovincialis* z Morza Śródziemnego (część 7.1), polimorfizm genetyczny inwazyjnych populacji *M. galloprovincialis* u wybrzeży południowej Afryki (część 7.2) oraz pochodzenie geograficzne oraz przynależność taksonomiczną prób żywnościowych omutków *Mytilus* (część 7.3). Wszystkie części są napisane zwięźle, ale informatywnie. W części pierwszej mam jednak pytanie dotyczące części dyskusji związanej z akwakulturą (strona 101). Za niezbyt fortunne uważam określenie przytoczone przez Doktorantkę „*Biorąc pod uwagę wprowadzanie do hodowli importowanych transportów, które nie były rejestrowane, bardzo trudno jest oszacować ich wpływ w obecny brak struktury geograficznej populacji M. galloprovincialis w Morzu Śródziemnym*”. Chciałam poprosić o wyjaśnienie, w jaki sposób można oszacować wpływ czegokolwiek w brak struktury geograficznej danej populacji? Podobnie proszę o doprecyzowanie informacji zawartych w części 7.2 „*Uzyskane wyniki badań SNP potwierdziły wcześniej opublikowane przypuszczenia o pochodzeniu inwazyjnych populacji M. galloprovincialis z wybrzeży Południowej Afryki na podstawie badań z użyciem pojedynczych diagnostycznych markerów molekularnych: DNA jądrowego i mitochondrialnego (Daguin i Borsa, 2000; Zardi i in., 2018)*”.

Rozdział 8: Wnioski składa się z ośmiu wniosków, które dobrze podsumowują uzyskane wyniki badań. Najważniejsze, z mojej perspektywy, są wnioski dotyczące aplikacyjnego wykorzystania markerów SNP (53 loci) zarówno do badań dotyczących zróżnicowania genetycznego populacji natywnych *M. galloprovincialis* jak i do badań przynależności taksonomicznej *Mytilus* spp. w produktach żywnościowych dostępnych w Europie.

Rozdział 9: Literatura składa się ze 168 pozycji literaturowych i jest przygotowany w sposób czytelny i jednolity.

Wnioski końcowe. Zawarte w recenzji powyżej uwagi i zasygnalizowane nieścisłości czy też wątpliwości nie wpływają na moją zasadniczo pozytywną ocenę recenzowanej pracy. W rozprawie Doktorantka przedstawiła wyczerpującą analizę zróżnicowania genetycznego populacji rodzimych *M. galloprovincialis* z Morza Śródziemnego, omówiła polimorfizm genetyczny populacji *M. galloprovincialis* z wybrzeży południowej Afryki także w kontekście pojawienia się inwazyjnych populacji omułka, oraz przedstawiła analizę taksonomiczną wraz z przyporządkowaniem pochodzenia geograficznego prób żywnościowych omułków w oparciu o przeprowadzoną analizę SNP.

Reasumując uważam, że praca doktorska pani mgr Anny Prądyńskiej jest cenną i bardzo interesującą rozprawą naukową, z wynikami częściowo już opublikowanymi w dwóch znanych i międzynarodowych czasopismach. Praca spełnia wymagania stawiane tego typu rozprawom, dlatego też przedkładam Radzie Instytutu Oceanologii Polskiej Akademii Nauk wniosek o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Anny Prądyńskiej do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Gdynia, 16.03.2023



Katarzyna Smolarz