

UNIwersytet SZCZECIŃSKI



RPW/5980/2022 P  
Data: 2022-12-28

Łódź, dnia 18.12.2022 r.

Dr hab. Joanna Żelazna-Wieczorek, Prof. UŁ  
Katedra Algologii i Mykologii  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
Uniwersytet Łódzki

## RECENZJA

### rozprawy doktorskiej Pani mgr Marty Krzywda

pt.: „Biogeografia morskich okrzemek bentosowych w świetle badań mikrobiomu pancerzy żółwi  
*Caretta caretta* gniazdujących na wybrzeżach śródziemnomorskich”,  
wykonanej pod kierunkiem Prof. dr. hab. Andrzeja Witkowskiego  
oraz promotora pomocniczego dr. Przemysława Dąbka  
w Instytucie Nauk o Morzu i Środowisku, Uniwersytetu Szczecińskiego

Zmiany zachodzące współcześnie w środowisku wodnym, zarówno w wodach śródlądowych jak i w środowisku morskim i oceanicznym, powodują zaburzenia w funkcjonowaniu biotycznego składnika hydrosfery. W ostatnich latach podejmuje się badania dużych kręgowców wodnych, ich kondycji, zasięgu i migracji. Badania tych organizmów mają na celu wskazywanie zagrożeń wynikających z przekształceń antropogenicznych środowiska przez pryzmat ich zewnętrznego mikrobiomu. Dotychczasowe badania mikrobiomu epizoicznego, najczęściej obejmowały wirusy i bakterie, natomiast organizmy mikroeukariotyczne, w tym fotoautoroficzne, nadal pozostają słabo rozpoznane. W ostatnich latach coraz częściej identyfikowaną składową epizoonu morskich kręgowców wodnych stają się okrzemki (Bacillariophyta). Okrzemki stanowią szeroko rozprzestrzenioną na Ziemi grupę mikroorganizmów, jednak są wśród nich zarówno gatunki ubikwistyczne jak i związane ściśle z określonymi warunkami środowiska – stenotopowe, o ograniczonym zasięgu występowania. Najnowsze obserwacje okrzemek epibiontycznych wskazują, że tworzą one zróżnicowane, jednak stabilne pod względem składu taksonomicznego zbiorowiska,



które tworzą gatunki obligatoryjnie epizoiczne oraz gatunki o szerokim rozprzestrzenieniu i związane z różnymi formacjami ekologicznymi. Interesującym aspektem współcześnie podejmowanych badań jest możliwość uzyskania, z mikrobiomu morskich zwierząt, monoklonalnych szczepów okrzemek epizoicznych, bez ich żywicieli. Zastosowanie badań molekularnych dla określenia sekwencji DNA szczepów uzyskanych w wyniku hodowli daje podstawy do rzetelnych i weryfikowalnych danych o składzie mikrobiomu. Mając do dyspozycji bazy z sekwencjami DNA okrzemek z różnych ekosystemów, nie tylko morskich, można następnie wnioskować nie tylko o migracji i strategii życiowej żywiciela, ale również o stanie środowiska, z którym zwierzę jest związane. Badając strukturę mikrobiomu zwierząt morskich możemy weryfikować hipotezę, że są one wektorem rozprzestrzeniania się okrzemek.

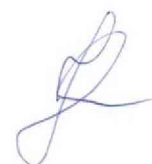
Przesłana do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Marty Krzywda wpisuje się w zagadnienia badawcze przywołane powyżej. Warto nadmienić, że doktorantka wybierając temat pracy doktorskiej rozpoczęła badania zespołów okrzemek zasiedlających pancerze żółwi morskich z Morza Śródziemnego, głównie *Caretta caretta*. Badania te mają charakter pionierski, a na ich realizację doktorantka uzyskała projekt z NCN - Preludium 13.

Rozprawa doktorska ma formę manuskryptu o układzie powszechnie przyjętym i akceptowanym. Forma ta ma swoje zalety, ale również stawia ogromne wymagania autorowi, ponieważ stanowi ostateczną wersję dzieła poddawanego ocenie recenzentów, która zawiera ocenę warsztatu pracy naukowej a także umiejętności przygotowania tekstów naukowych.

Recenzowana praca została mi przekazana w postaci manuskryptu oraz w wersji elektronicznej – zapis na płycie DVD. Od strony oceny formalnej stwierdzam, że manuskrypt liczy 197 stron i tworzą go następujące rozdziały zawarte w spisie treści: 1. Wstęp, 2. Materiał i metody, 3. Wyniki, 4. Dyskusja, 5. Wnioski, następnie zamieszczono Literaturę, Spis ilustracji i rycin oraz Załączniki. W tym miejscu pragnę zwrócić uwagę, że spis treści nie zawiera informacji o streszczeniu rozprawy doktorskiej, w języku polskim i języku angielskim, które zostały zamieszczone na stronach od 194 do 197. Moim zdaniem streszczenie winno zamykać zasadniczą część pracy i zostać zamieszczone po spisie publikacji, przed załącznikami.

### **Ocena szczegółowa rozprawy doktorskiej**

Wstęp pracy powinien wprowadzić czytelnika, w tym przypadku recenzenta, w podejmowany temat odpowiadając na pytania: o czym są badania, jaki jest przedmiot i podmiot badań?, co dotychczas wiadomo w zakresie podejmowanego tematu?, czy i jakie postawiono hipotezy badawcze?, oraz sprecyzowanie celów badań służących falsyfikacji sformułowanych hipotez w pracy doktorskiej. Doktorantka we wstępie scharakteryzowała ogólnie okrzemki (Bacillariophyta) pod względem ich morfologii, z odniesieniem do miejsca w systemie klasyfikacji organizmów, przedstawiła ich biologię oraz ekologię. Następnie przedstawiła środowisko życia żółwi morskich *Caretta caretta*, łącząc ich biologię z zagrożeniem wyginięciem tej grupy morskich kręgowców. W tym miejscu doktorantka podaje wartości liczbowe dotyczące nielegalnych połowów, osiągające nawet 150 000 osobników, a następnie podaje szacowaną liczebność populacji tego gatunku na świecie około 100 000 - 200 000



precyzując, że dotyczy ona osobników dorosłych. Nasuwa się pytanie, w jakim czasie połowy dotyczą 150 tys. osobników i na jakich etapach ich życia? Również w tej części tekstu wprowadzającego w temat pracy, Doktorantka zamieściła zdanie „*Na Tureckim wybrzeżu zinwentaryzowano 20 plaż, które są najbardziej reprezentatywne*”. Pomijając błędy językowe w tym zdaniu, proszę o wyjaśnienie pod jakim względem są one reprezentatywne. Kolejnym zagadnieniem poruszonym we wstępie jest przedstawienie żółwi kareta jako „podłoża” zasiedlanego przez różne grupy mikroorganizmów oraz relacje pomiędzy epibiontami a ich gospodarzem. Doktorantka, w tym podrozdziale, opisała obecny stan wiedzy o okrzemkach, których występowanie potwierdzono na kręgowcach morskich. Następnie w podrozdziale 1.4., Autorka kontynuuje zagadnienie powiązania biogeografii okrzemek morskich, z odniesieniem do migracji żółwi w Morzu Śródziemnym, ale i poza nim. W podrozdziale 1.5. przedstawiła miejsca gniazdowania żółwi kareta w Morzu Śródziemnym, co wiąże się ściśle z poprzednim zagadnieniem a mianowicie ich migracją. Wskazane miejsca gniazdowania, które potwierdzono przede wszystkim na wschodnim wybrzeżu Morza Śródziemnego, znajdują się w Turcji. Zamieszczone w tej części pracy ilustracje treści, w postaci map, są słabo czytelne. Więcej miejsca zajmuje opis mapy niż ona sama. Charakterystyka miejsc gniazdowania przenosi nas do podrozdziału – *Obszar badań*. Akapit o strefach fitogeograficznych i roślinach endemicznych, w przedstawionej do oceny pracy mógł zostać pominięty. Charakterystyka obszaru badań jest bardzo ogólna a dalsza część niniejszego fragmentu pracy przedstawia stan zbadania zbiorowisk okrzemek tego obszaru. Zarówno w tym miejscu jak i w następnym rozdziale i podrozdziale 2.1. nie przedstawiono, poza ryciną 11, opisu miejsca poboru prób, do czego w dyskusji odnosi się Autorka przy omawianiu obecności na żółwiach morskich, okrzemek słodkowodnych.

Wstęp rozprawy doktorskiej wieńczy część, w której Doktorantka podjęła się określenia celu/celów badań, sformułowania hipotez i postawienia pytań badawczych, aby, jak rozumiem, dokonać ich weryfikacji i falsyfikacji. Już pierwsze zdanie tego podrozdziału jest niezbyt trafnie sformułowane i brzmi ono „*Za pomocą okrzemek epibiontycznych można opracować charakterystyczne dla nich siedliska.*” – moim zdaniem lepiej brzmiałoby zdanie – Okrzemki epibiontyczne pozwalają opisać charakterystyczne dla nich siedliska. Przedstawione cele badań można ograniczyć. Cele - czwarty i piąty, zawarte są w pierwszych trzech celach. Spośród czterech sformułowanych hipotez badawczych, druga hipoteza powinna być wyartykułowana następująco *Okrzemki, które występują na powierzchni kręgowców morskich, w tym żółwi kareta, posiadają wysoki stopień specjalizacji w odniesieniu do podłoża*. Pozostała część jest już objaśnieniem, które można wykorzystać przy weryfikacji postawionej hipotezy, tak jak i postawione pytania badawcze.

W rozdziale 2 – *Materiały i metody*, Doktorantka przedstawiła sposób pozyskania materiału badawczego, a następnie warunki prowadzenia hodowli w celu uzyskania monoklonalnych szczepów okrzemek wchodzących w skład biofilmu z karapaksu żółwi *Caretta caretta*. Następnie opisała metody analizy taksonomicznej uzyskanych szczepów okrzemek oraz skrawków karapaksu żółwi tego gatunku. Niestety, z podrozdziału *Pobór prób i hodowla okrzemek*, nie uzyskałam wyczerpującej informacji o liczbie, miejscu i podłożu prób, z których wyprowadzono szczepy wykorzystane do dalszej analizy. Po przeczytaniu manuskryptu, dopiero w streszczeniu znalazłam syntetyczną informację o zebranych próbach. Oczywiście skrupulatna analiza tabeli 2, a nie jak w tym podrozdziale podano tabeli 1, w której zamieszczono spis wyizolowanych szczepów pozwoliła mi dotrzeć do danych, między innymi, że wyprowadzone szczepy pochodziły również ze środowiska, nie tylko z jednej plaży na wybrzeżu Turcji,

a także z żółwia zielonego. W tym miejscu proszę o komentarz na jakim etapie składania jaj przez samice żółwi pobierano próby, aby nie narazić ich na stres.

W dalszej części tego podrozdziału Doktorantka opisała warunki hodowli prowadzonej w laboratorium Instytutu Nauk o Morzu i Środowisku Uniwersytetu Szczecińskiego, wykorzystując standardową pożywkę do hodowli okrzemek morskich f/2. Zamieszczona rycina 13, przedstawiająca schemat prowadzenia hodowli byłaby doskonałą ilustracją postępowania, gdyby była bardziej czytelna, co można uzyskać przez jej powiększenie do formatu strony A4. Pragnę zwrócić uwagę na jednostkę natężenia światła, którą w układzie SI jest luks ( $lx = cd \cdot sr \cdot m^{-2}$ ).

W podrozdziale 2.2. przedstawiona została procedura postępowania w celu przeprowadzenia analizy taksonomicznej okrzemek na podstawie biomasy monoklonalnych kultur okrzemek z zastosowaniem klasycznych metod obserwacji morfologicznych cech diagnostycznych, czyli LM i SEM. W „preparatyce” okrzemek stosując żywicę Naphrax® do przygotowania trwałych preparatów podgrzewamy ją w celu usunięcia rozpuszczalnika, a nie pozbycia się wilgoci. Natomiast w podrozdziale 2.3. przedstawiono sposób postępowania w celu możliwości przeprowadzenia obserwacji w elektronowym mikroskopie skaningowym mikrobiomu na skrawkach pancerzy żółwi.

W kolejnym podrozdziale 2.4., Doktorantka opisała zastosowane w pracy metody związane z analizą genetyczną monoklonalnych szczepów okrzemek wyhodowanych z prób pobranych przez Doktorantkę. Wskazała, że wykorzystane zostały również szczepy pochodzące z wybrzeża Chorwacji, które są zdeponowane w kolekcji SZCZ. Izolacja obejmowała całkowite DNA (genomowe to tylko jądrowe DNA), natomiast w reakcji PCR amplifikowano dużą podjednostkę genu plastydowego *rbcl*. W tabeli 4 zamieszczono informację o czterech starterach (w dwóch parach, druga kolumna tabeli), które są wykorzystywane do dwóch odrębnych reakcji lub w reakcji prowadzonej dwuetapowo. Kontrola przebiegu reakcji PCR odbywała się z użyciem prób kontrolnych, przy czym próba negatywna – bez matrycy DNA, zawierała wodę dejonizowaną i prawdopodobnie składniki reakcji. Skoro próby były monoklonalne po co więc rozdzielano fragmenty DNA w procesie elektroforezy. Przy wizualizacji efektów reakcji PCR oczekujemy jednego prążka, ponieważ kilka prążków wskazuje na zanieczyszczenie próby lub gdy zastosowane primery są niespecyficzne i wchodzą w reakcję z innymi regionami. Doktorantka wskazuje, że wykonano dokumentację fotograficzną wizualizacji wyników reakcji PCR, jednak nie została ona dołączona do manuskryptu. Odnosząc się do opisu metody zastosowanej do rekonstrukcji drzewa filogenetycznego nasuwa się pytanie: jaki model ewolucyjny wybrano dla analizy filogenetycznej? Z opisu metody wynika, że podstawą analizy filogenetycznej był jeden gen oraz zastosowano jedną metodę statystyczną (ML).

W rozdziale 3 – Wyniki, Doktorantka przyjęła następujący układ ich zaprezentowania, a mianowicie opis taksonomiczny jedenastu rodzin okrzemek, do których sklasyfikowano wyprowadzone szczepy. Został on zamieszczony w kolejności zgodnej z miejscem na zrekonstruowanym drzewie filogenetycznym na podstawie łącznie 331 szczepów. Niestety, odesłanie czytelnika do Załącznika 1 i Załącznika 2 oraz Tabeli 2, w celu uzyskania syntetycznej informacji o pochodzeniu/źródle wykorzystanego zestawu sekwencji genu *rbcl*, nie pozwala uzyskać pełnej informacji.

Uważam za bardzo trafny, przyjęty przez Autorkę układ opisu rodzin ze wskazaniem gatunków, których identyfikację potwierdzono zarówno przez wykorzystanie klasycznych metod dla okrzemek – analizy cech morfologicznych oraz zweryfikowano ją na podstawie sekwencji genu *rbcl*. Omówiono w nim również, na podstawie danych z piśmiennictwa, rozprzestrzenienie geograficzne potwierdzonych

gatunków lub taksonów. W wielu przypadkach występowanie tych taksonów było potwierdzone wcześniej głównie na podstawie analizy ich cech morfologicznych. Bardzo wartościową część wyników stanowi wysokiej klasy dokumentacja fotograficzna zebrana w plansze, wykonana w mikroskopie optycznym oraz podczas analiz z wykorzystaniem SEM. Niestety odniesienia w tekście wielokrotnie, kierują czytelnika „do nieadekwatnej ryciny”.

Proszę o wyjaśnienie, jak należy rozumieć, że jeden szczep został wyizolowany z dwóch różnych prób, jak na przykład w przypadku *Achnanthes elongata* - dwa szczepy wyizolowano z trzech prób z pancerzy żółwi: szczep SZCZM1449 z TRY-0639, natomiast SZCZM1865 z TRY 2012 i TRY 2013, a także w przypadku szczepu SZCZM1861 zaklasyfikowanego jako *Nitzschia cf. traheaformis*, został on wyizolowany z dwóch różnych prób. Odwrotna sytuacja, jak w przypadku *Achnanthes brevipes*, gdy dwa szczepy wyprowadzone z materiału pobranego z jednego żółwia reprezentują jeden gatunek, jest oczywista. Na rycinie 20 przedstawiono rozmieszczenie *Nitzschia traheaformis* a nie *N. cf. traheaformis*.

Jeden z poddanych analizie taksonomicznej szczepów - SZCZM483, zaklasyfikowany jako *Psammodictyon constrictum*, gatunek epipelagiczny, został wyizolowany z bentosu w miejscu gniazdowania żółwi. Z rodziny Catenulaceae Mereschkowsky wyizolowany szczep SZCZM1746 został zidentyfikowany jako *Amphora helenensis* w próbie z pancerza żółwia w Aquarium Pula w Chorwacji. Natomiast szczepy uzyskane z prób pobranych z pancerzy żółwi w miejscu gniazdowania na plaży w Turcji, na podstawie analizy cech morfologicznych, zidentyfikowano jako *Entomoneis gracilis* i *Entomoneis vilicicii*. Na drzewie *rbcl* szczepy SZCZM482 i SZCZM650 tworzą wspólny kład z *E. pusilla* i *E. gracilis*, a szczep SZCZM1835 z *E. vilicicii*, które zostały opisane z Morza Adriatyckiego.

Z prób pobranych z pancerzy żółwi wyizolowano szczepy, które zaklasyfikowano do rodzaju *Halamphora*, przy czym trzy szczepy zidentyfikowano jako gatunki, jeden szczep to *H. sydowii*, dwa szczepy to *H. banzuensis*. W tym przypadku, jednak co do siły wsparcia klasyfikacji na podstawie drzewa filogenetycznego podchodziłabym z większą ostrożnością. Również ze względu na rozbieżność w długości okryw pomiędzy materiałem uzyskanym z hodowli oraz podawanym w piśmiennictwie. Pozostałe sześć szczepów sklasyfikowanych do rodzaju *Halamphora*, według Doktorantki stanowi potencjalnie 6 odrębnych taksonów/gatunków. Analizując zamieszczoną dokumentację cech morfologicznych oraz brak dostępnych sekwencji *rcbL*, które potwierdziłyby założenia przyjęte przez Autorkę uważam, że ostrożne podejście również w tym przypadku jest uzasadnione. Rycina 30 nie oddaje w pełni przedstawionego na podstawie analizy piśmiennictwa rozmieszczenia *Halamphora sydowii*, a Biscayne Bay na Florydzie jest opisana na mapie jako Zatoka Biskajska.

Dwa szczepy, spośród wyizolowanych podczas realizacji pracy doktorskiej, na podstawie cech morfologicznych, zidentyfikowano jako należące do rodzaju *Parlibellus*. Jednak przeprowadzona analiza filogenetyczna nie włączyła ich do kładu z gatunkami należącymi do rodziny Berkeleyaceae.

Do rodziny Achnanthesiaceae, na podstawie wyizolowanych trzech szczepów (przy czym jeden SZCZM1837 uzyskano z materiału pobranego z dwóch żółwi), zaklasyfikowano *Karayevia sumbmarina*. W analizie filogenetycznej wykorzystano szczep *Kolbesia Karayeva* Senegal, dla którego nie odnalazłam w Załączniku 2 nazwy szczepu, a tym bardziej numeru z GenBank *rcbL*, skąd więc pochodzi ten szczep. Najliczniejszą grupę wyizolowanych szczepów zaklasyfikowano do rodziny Naviculaceae (29 - dane z Tabeli 2, natomiast w opisie wyników brakuje szczepów SZCZM647 i SZCZM 1866 opisanych jako *Navicula* sp.5). Są to głównie okrzemki „o morfotypie” *Navicula perminuta*. Analiza cech

morfologicznych zestawionych w tabeli 8 (zakres zmienności cech metrycznych powinien być uporządkowany od wartości najmniejszych do najwyższych), wsparta analizą PCA oraz struktura prążków na podstawie dokumentacji fotograficznej z SEM, wskazują na dwa typy morfologiczne. W tym przypadku niemożliwość zaklasyfikowania szczepów do znanych już gatunków oraz opisanie nowych gatunków może wynikać z zastosowania analizy jednogenowej i ograniczonej dostępności sekwencji referencyjnych.

Jeden z wyprowadzonych szczepów, który tworzy kład ze szczepami wyizolowanymi zarówno z Morza Śródziemnego jak i z zachodniego Atlantyku oraz Afryki Południowej, zaklasyfikowano jako *Nanofrustulum shiloi* do rodziny Staurosiraceae.

Dwie rodziny, do których zaklasyfikowano wyizolowane szczepy, reprezentują grupę okrzemek centrycznych. Do rodziny Paraliaceae przyporządkowano dwa szczepy, na podstawie analizy cech morfologicznych jako *Paralia longispina*. Na drzewie filogenetycznym nie odnalazłam *P. crawfordii*. Do rodziny Melosiraceae zaklasyfikowano pięć szczepów, w wyniku analizy cech morfologicznych wspartej analizą filogenetyczną jako *Melosira lineata*. Jednak w tym samym kładzie znajdują się również sekwencje opisane jako *M. dubia*.

W podrozdziale 3.2. zostały przedstawione wyniki analizy w SEM struktury biofilmu zasiedlającego karapaks żółwi *Caretta caretta*. Przeanalizowano skrawki pochodzące z pancerzy pięciu różnych osobników żółwi. Czy wszystkie próbki zostały zebrane z żółwi gniazdujących na tureckiej plaży? Analizowane skrawki różniły się zagęszczeniem występujących na nim okrzemek epizoicznych. Są to taksony, których nie udało się wyprowadzić podczas hodowli w postaci monoklonalnych szczepów, na przykład z rodzaju *Chelonicola* i *Tripteron*. Niestety, w odesłaniu czytelnika do rycin dokumentujących „obraz” biofilmu wkraady się błędy. Natomiast, co koniecznie muszę podkreślić, dokumentacja wykonana podczas analizy w SEM jest bardzo wysokiej jakości.

Zamykając ocenę części zawierającej wyniki przeprowadzonych badań pragnę zwrócić uwagę, że Doktorantka posługuje się często zamiennie pojęciami szczep, takson, gatunek i rodzaj.

W rozdziale 4 – Dyskusja, Doktorantka omawia uzyskane wyniki w odniesieniu do piśmiennictwa tematu, dzieląc tekst na cztery podrozdziały. Warto podkreślić krytyczne podejście Autorki do możliwości prowadzenia badań w wybranym temacie przez wskazanie, zarówno na podstawie własnego doświadczenia jak i danych z najnowszego piśmiennictwa, ograniczeń i trudności. Główną trudność stanowi dostępność materiału badawczego – epibiontycznych, epizoicznych okrzemek zasiedlających pancerze żółwi morskich. Próby pobierane w czasie gniazdowania dają możliwość pozyskania materiału jedynie z samic. Kolejnym ograniczeniem w kontekście powiązania biogeografii morskich okrzemek z żółwiami, jest stan poznania szlaków migracji żółwi i miejsc ich żerowania.

Następnie Doktorantka szeroko omawia uzyskane wyniki w odniesieniu do dotychczas przeprowadzonych badań mających na celu określenie zróżnicowania taksonomicznego zespołów okrzemek – epibiontów, związanych z żółwiami *Caretta caretta*. Zgodnie z celami realizowanymi w pracy doktorskiej do określenia różnorodności okrzemek podstawę stanowiły badania na wyprowadzonych monoklonalnych szczepach, zarówno metodami klasycznymi jak i molekularnymi (sekwencje *rbcl*). Doktorantka przeprowadziła pogłębioną dyskusję w odniesieniu do ustalonej w wyniku przeprowadzonych badań klasyfikacji szczepów do rodzin, rodzajów oraz gatunków. Scharakteryzowała krytycznie, na podstawie dostępnej literatury, zidentyfikowane taksony pod względem ich ekologii i rozmieszczenia w skali globalnej. Spośród okrzemek określanych jako

obligatoryjnie epizoiczne, Doktorantka uzyskała w wyniku hodowli *Achnanthes elongata*. Natomiast analiza biofilmu na skrawkach pancerzy żółwi wykonana w SEM, potwierdziła obecność w jego składzie innych taksonów, podawanych w piśmiennictwie jako formy epizoiczne związane z żółwiami. Doktorantka w dyskusji wskazuje, że tworzenie się biofilmu o określonym zróżnicowaniu taksonomicznym organizmów jest losowe i zależy od czasu i grupy organizmów, która jako pierwsza zasiedla podłoże, którym są karapaksy żółwi. W dalszej części Doktorantka omówiła warunki środowiska morskiego, które determinują występowanie określonych taksonów okrzemek na żółwiach podejmujących migracje pomiędzy odległymi obszarami na Ziemi. Na podstawie wcześniejszych badań wykazano, że populacja śródziemnomorska żółwi kareta i populacja pochodząca z wód Oceanu Atlantyckiego „wymieniają się” mikroflorą okrzemkową. Na podstawie własnych badań, Doktorantka proponuje następujące pogrupowanie okrzemek zasiedlających żółwie na gatunki kosmopolityczne, lokalne i „egzotyczne”. Wskazuje również inne niż żółwie wektory rozprzestrzeniania się okrzemek w ekosystemach morskich.

Po zapoznaniu się z rozdziałem 5 rozprawy doktorskiej – uważam, że trafniejszym dla niego tytułem byłoby - Posumowanie i wnioski. Zawarta w nim treść odnosi się wprost do wskazanych w pracy celów badań, natomiast brakuje w nim jednoznacznej oceny postawionych hipotez – prawdziwa/fałszywa.

#### Uwagi ogólne

Przedstawiona do oceny praca zawiera uchybienia stylistyczne, gramatyczne i interpunkcyjne, czasami utrudniające zrozumienie tekstu pisanego. Doktorantka nie ustrzegła się częstego używania *czy* zamiast *albo* bądź *lub*. *Czy* - to partykuła rozpoczynająca zdanie pytajne lub ekspresywne, mające formę zdania pytajnego; *albo* spójnik zdań podrzędnych o charakterze pytajnym; spójnik łączący zdania równorzędne lub ich części, wyrażający wymiennosc lub wyłączenie się członów (Słownik języka polskiego PWN).

W manuskrypcie zauważyłam szereg nieścisłości i niezgrabności językowych, na przykład:

- strona 14 – „ogromną zaletą okrzemek jest ich bardzo szybki wzrost, (...)” – przyrost biomasy okrzemek wynika z często zachodzących podziałów komórkowych, a nie wzrostu ich komórki;
- strona 22 - „na zagęszczenie okrzemek epizoicznych wpływa charakter gospodarza”, co należy rozumieć pod stwierdzeniem - charakter gospodarza;
- strona 80 – „Gatunki żyjące w tubach mają bardzo długą historię, która rozpoczęła się w (...)” – badania/obserwacje okrzemek żyjących w tubach prowadzone są od dawna. Zapewne historia okrzemek żyjących w tubach jest znacznie dłuższa niż rok 1803.
- strona 116 – „Okrzemka ta na pierwszy rzut oka przypomina (...)”

Niedociągnięciem przedstawionego manuskryptu są liczne uchybienia dotyczące cytowania źródeł i zgodności ich przywołania ze spisem piśmiennictwa. Wielu zacytowanych prac brakuje w spisie, a publikacje w nim zamieszczone zawierają błędy dotyczące danych bibliograficznych oraz nie wypełniają założeń przyjętego przez Autorkę układu cytowania (alfabetycznie i chronologicznie).

## Konkluzja

Zawarte w recenzji krytyczne uwagi, sugestie i pytania, nie umniejszają wartości wyników badań uzyskanych przez Autorkę i przedstawionych w rozprawie doktorskiej przedłożonej do oceny. Mam nadzieję, że posłużą one Doktorantce w jej przyszłej pracy oraz będą pomocne w przygotowaniu wartościowych publikacji Jej autorstwa.

Wyprowadzone monoklonalne szczepy okrzemek z mikrobiomu zasiedlającego pancerze żółwi morskich, włączone do Szczecińskiej Kolekcji Morskich Okrzemek, stanowią bardzo wartościowy materiał do dalszych badań. Poddana ocenie rozprawa doktorska Pani mgr Marty Krzydła jest oryginalnym rozwiązaniem postawionego problemu badawczego i poszerza wiedzę w zakresie relacji między morskimi okrzemkami epibiontycznymi a ich gospodarzem i środowiskiem.

**Uważam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) i zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Nauk o Morzu i Środowisku Uniwersytetu Szczecińskiego o dopuszczenie Pani mgr Marty Krzydła do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Z poważaniem,

