

**UNIwersYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Wydział Nauk Biologicznych
i Weterynaryjnych

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgra Marcina Wiorka pt.: „Taksonomia i filogeneza wybranych rodzajów madagaskarskich Syntomini (Lepidoptera: Erebiidae: Arctiinae)”, wykonanej w Zakładzie Zoologii Bezkręgowców Instytutu Systematyki i Ewolucji Zwierząt Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem dra hab. Łukasza Przybyłowicza.

1. Wstęp

Tematem badań przedstawionych w przedmiotowej rozprawie są rodzaje *Thyrosticta* Hampson i *Melanonaclia* Griveaud w obrębie rodziny Erebiidae. Łącznie te dwa rodzaje stanowią około 30% różnorodności gatunkowej madagaskarskich Syntomini – plemienia obejmującego około 100 gatunków. Choć Syntomini uważane są za grupę monofiletyczną, sugeruje się, że oba te rodzaje mogą być potencjalnie polifiletyczne. Skutkuje to pilną potrzebą rewizji i sformułowania nowych diagnoz dla taksonów niższej rangi. Rozprawa wpisuje się w tenże kierunek badań. Doktorant sformułował, a następnie przetestował cztery hipotezy badawcze dotyczące systematyki, różnorodności i rozmieszczenia rodzajów *Thyrosticta* i *Melanonaclia*. Proponuje on zastosowanie metod taksonomii integratywnej w celu uzyskania spójnej rewizji tych rodzajów. Biorąc pod uwagę różnorodność grupy, ograniczoną wiedzę na temat jej taksonomii, słabe dotychczasowe rozpoznanie jej fauny oraz konieczność zintegrowania tradycyjnych i nowoczesnych metod badawczych, wybrany temat można uznać za ambitny.

2. Wartość naukowa rozprawy

a. Oryginalność badań

Przedmiotowa rozprawa mgra Marcina Wiorka jest pracą oryginalną, zaś oświadczenia współautorów wyraźnie potwierdzają wiodącą rolę doktoranta w jej przygotowaniu. Zawarte w rozprawie opublikowane artykuły i manuskrypt proponują rewizję rodzajów *Thyrosticta* i *Melanonaclia*. Rewizja ta opiera się na opracowanym przez doktoranta zbiorze danych dotyczących cech morfologicznych i molekularnych.

Praca ta, składająca się z trzech oddzielnych rozdziałów w formie artykułów, wnosi istotny wkład do trwającej dyskusji na temat filogenezy, systematyki i biogeografii rodziny Erebiidae, dużej i zróżnicowanej grupy motyli (Lepidoptera). Rewizja morfologiczna, poparta delimitacją gatunków na podstawie danych molekularnych (z



wykorzystaniem metod ASAP i PTP) oraz rekonstrukcją filogenetyczną (mS-seq; jeden marker DNA mitochondrialnego, siedem markerów DNA jądrowego), stworzyła podstawę do proponowanych istotnych rewizji w definicji i składzie badanych rodzajów.

Niewątpliwy aspekt oryginalności widoczny jest także w części rozprawy poświęconej alfa-taksonomii, w której znajdują się opisy i redeskrypcje gatunków. Rozprawa jest pracą nowoczesną, spełniającą wysokie standardy w zakresie taksonomii motyli i badań systematycznych. Jest ona w pełni porównywalna z innymi wysokiej jakości badaniami podejmującymi podobną tematykę w różnych grupach bezkręgowców.

b. Wartość naukowa rozprawy

Każdy z trzech obszernych rozdziałów, mających formę artykułów (dwa z nich to już opublikowane prace, zaś trzeci to manuskrypt przesłany do recenzji w czasopiśmie „Zoological Journal of the Linnanean Society”), porusza zagadnienia taksonomiczne związane z rodzajami *Thyrosticta* i *Melanonactia*. Doktorant, wykorzystując metody taksonomii integracyjnej, weryfikuje cztery hipotezy badawcze. Zakres treści, skala podejmowanych problemów naukowych oraz objętość dokumentacji cech morfologicznych przedstawione w manuskrypcie przesłanym do „Zoological Journal of the Linnanean Society” spełniają kryteria wymagane dla rozprawy doktorskiej.

Mgr Marcin Wiorek oparł swoje badania na obszernym zbiorze danych. Badania morfologiczne i dotyczące rozmieszczenia gatunków przeprowadzono na 1402 okazach zebranych w terenie lub pochodzących ze zbiorów muzealnych. Analiza morfologiczna obejmuje badanie struktur narządów płciowych, użytkowania skrzydeł, a także morfologii jaj, opisanej po raz pierwszy w przypadku tej grupy. Część dokumentacji sporządzono przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Prezentowana dokumentacja jest wysokiej jakości, a powtarzalne obrazy umożliwiają wiarygodne porównania zilustrowanych struktur u różnych gatunków.

Badania molekularne objęły 1016 sekwencji (łącznie 643 549 par zasad) otrzymanych z 254 okazów. Wyniki pozwoliły na gruntowną i dobrze uzasadnioną rewizję obu badanych rodzajów. Zarówno *Thyrosticta*, jak i *Melanonactia* okazały się polifiletyczne i obejmowały aż dziewięć (!) odrębnych linii ewolucyjnych. Siedem z nich zaproponowano jako nowe rodzaje, co jest niewątpliwym osiągnięciem tej rozprawy. Na szczególną uwagę w tym kontekście zasługuje intrygujące podejście do etymologii.

Stosując metody delimitacji oparte na danych molekularnych (sekwencje COI), poparte szczegółową analizą cech morfologicznych, doktorant zweryfikował status wszystkich badanych (opisanych gatunków). Wysiłki te doprowadziły do zidentyfikowania trzech nowych gatunków i synonimizacji pięciu kolejnych. Warto zauważyć, że uzyskana filogeneza molekularna dobrze pokrywa się z rozkładem kluczowych cech morfologicznych. Pomimo dużej zmienności morfologicznej w obrębie badanego zestawu gatunków, doktorantowi udało się zidentyfikować cechy apomorficzne dla wszystkich nowo zdefiniowanych rodzajów, co nie zawsze jest łatwe w badaniach metodą taksonomii integratywnej. Spośród cech o znaczeniu filogenetycznym najbardziej intrygująca



wyduje się obecność wydłużonej kępki łusek u nasady przedniej nogi samca, potencjalnie pełniące funkcję związaną z feromonami. Oprócz opisu nowych taksonów, istotnym wkładem tej rozprawy jest uzupełnienie informacji o gatunkach opisanych wcześniej. Doktorant dostarcza brakujące opisy samców i samic dla aż siedmiu gatunków. Ponadto po raz pierwszy opisano szczegółowo jaja czterech gatunków. Analiza biogeograficzna ujawniła silne powiązania między gatunkami i konkretnymi typami siedlisk, przy czym największą różnorodność odnotowano w wilgotnych, wiecznie zielonych lasach Madagaskaru. Sześć z 30 analizowanych gatunków uznano za lokalne endemity, przy czym określenie to może być nieco przedwcześnie ze względu na ograniczoną wiedzę na temat fauny Madagaskaru. Praca zawiera ciekawą obserwację dotyczącą pewnego endemicznego gatunku występującego na Mauritiusie, o którym wykazano, że należy do jednego z głównych kładów madagaskarskich. Na tej podstawie doktorant wywnioskował dyspersję Syntomini z Madagaskaru do innych regionów geograficznych. Ważnym uzupełnieniem rozprawy są pierwsze informacje dotyczące bionomii badanej grupy, takie jak dane dotyczące roślin żywicielskich i biologii rozwoju.

Podsumowując, badane rodzaje okazały się trudną grupą taksonomiczną, lecz dzięki zastosowaniu odpowiednich metod badawczych doktorantowi udało się sprostać temu wyzwaniu. W kontekście globalnej potrzeby dokumentowania spadku różnorodności biologicznej, kluczowe osiągnięcia niniejszej rozprawy można podsumować następująco: 1) zdefiniowanie *Thyrosticta* i *Melanonaclia* jako grup polifiletycznych i utworzenie siedmiu nowych rodzajów na podstawie uzyskanej filogenezy, 2) identyfikacja dobrze udokumentowanych cech apomorficznych dla zdefiniowanych rodzajów, 3) opis trzech nowych gatunków i synonimizacja pięciu innych, 4) opracowanie kluczy identyfikacyjnych dla rodzajów i gatunków, 5) przedstawienie map rozmieszczenia gatunków.

3. Wartość merytoryczna rozprawy

Wartość merytoryczną rozprawy oceniam jako wysoką. Hipotezy badawcze są jasno sformułowane, zaś zaproponowane metody badawcze – odpowiednie do ich weryfikacji. Podstawą analiz taksonomicznych jest udoskonalenie metod zapewniających pozyskiwanie powtarzalnych i porównywalnych danych. Wybrany temat badań stawia pod tym względem znaczne wyzwania. Aparat koplacyjny – kluczowa struktura w taksonomii tej grupy – jest słabo zesklekotyzowany, co utrudnia jego jednolitą preparację z zachowaniem ogólnego kształtu; często wymaga też dodatkowego barwienia. Ponadto zesklekotyzowane struktury trójwymiarowe, takie jak skrzydła czy łuski są trudne do dokumentowania w sposób powtarzalny za pomocą mikroskopii świetlnej w różnych konfiguracjach lub SEM. Należy zauważyć, że doktorant opanował te techniki na bardzo wysokim poziomie, prawdopodobnie korzystając z doświadczenia swojego promotora. Charakterystyka morfologiczna gatunków badanych w rozprawie została szczegółowo udokumentowana za pomocą mikroskopii świetlnej i SEM. Stanowi to wiarygodną podstawę do opisów nowych gatunków, rewizji taksonomicznych i rozważań ewolucyjnych. Relacje filogenetyczne zrekonstruowano i przedstawiono graficznie przy użyciu odpowiedniego,



nowoczesnego oprogramowania. Ich interpretacja jest trafna, zaś wyciągnięte wnioski, zwłaszcza dotyczące reklasyfikacji *Thyrosticta* i *Melanonactia* oraz wyodrębnienia licznych nowych rodzajów – uzasadnione.

4. Poprawność redakcyjna rozprawy

Rozprawa jest obszerna (502 strony) i dobrze ustrukturyzowana. Część główną poprzedza streszczenie w języku polskim i angielskim oraz spis artykułów/manuskryptów włączonych do rozprawy. Po krótkim wprowadzeniu doktorant jasno definiuje cele badawcze i przedstawia hipotezy badawcze. Rozdział „Materiały i metody” zawiera kompleksowe podsumowanie metodologii zastosowanych we wszystkich badaniach ujętych w rozprawie. Rozdziały poświęcone wynikom i dyskusji przedstawiają zbiorczą syntezę odkryć, po nich zaś następuje zwięzłe zakończenie. Po bibliografii znajdują się dwie tabele, a następnie trzy obszernie artykuły/manuskrypty liczące odpowiednio 35, 18 i imponujące 387 (!) stron. Każdy z nich ma typową strukturę publikacji naukowej, obejmującą wstęp, materiały i metody, wyniki oraz dyskusję. Ostatnia część zawiera również obszernie suplementy. Na szczególne uznanie zasługuje przejrzysta prezentacja dokumentacji morfologicznej i drzew filogenetycznych. Rozprawę kończą wymagane oświadczenia współautorów oraz samego doktoranta.

5. Uwagi krytyczne

Przedmiotowa rozprawa jest monumentalnym dziełem o dużej wartości naukowej. Uwagi krytyczne należy traktować przede wszystkim jako sugestie modyfikacji lub aktualizacji niektórych zastosowanych metod. Założone cele badawcze oraz weryfikacja postawionych hipotez przebiegły pomyślnie, bez większych przeszkód.

Rekonstrukcje filogenetyczne zaproponowane przez doktoranta i jego współpracowników opierają się na danych molekularnych. Niestety, rekonstrukcja filogenezy została przeprowadzona wyłącznie przy użyciu sekwencji uzyskanych metodą sekwencjonowania Sangera. Sekwencjonowanie Sangera jest coraz częściej uważane za przestarzałe ze względu na stosunkowo wysokie koszty (pod względem czasu i środków finansowych) pozyskiwania stosunkowo nielicznych fragmentów sekwencji. Główne rekonstrukcje filogenetyczne przedstawione w rozprawie cechują się niewielkim wsparciem dla węzłów wewnętrznych (Wiorek i in., wysłane, Ryc. 5A-B). Jest to najprawdopodobniej wynik ograniczonej liczby użytych genów/sekencji, co utrudnia określanie powiązań na wyższych poziomach taksonomicznych. Jestem świadom wyzwania związanych z izolacją DNA z okazów muzealnych, które ograniczają stosowalność niektórych metod sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Istotne znaczenie miała również prawdopodobnie potrzeba, aby dane molekularne były kompatybilne z sekwencjami opublikowanymi wcześniej i zdeponowanymi w repozytoriach, ponieważ pozwala to na szersze próbkowanie – co stanowi ważny czynnik w badaniach nad bogatymi w gatunki grupami



bezkęgowców. Zachęcałbym doktoranta do rozważenia w przyszłych badaniach alternatywnych metod molekularnych, takich jak genome skimming czy UCE, które umożliwiają pozyskanie bogatego zestawu danych nawet z izolatów o niskiej zawartości DNA. Zastosowanie podejścia filogenomicznego prawdopodobnie pozwoliłoby uzyskać drzewa o silniejszym wsparciu węzłów wewnętrznych, co dałoby większą pewność co do wnioskowanych powiązań ewolucyjnych.

Chciałbym również poprosić doktoranta o wyjaśnienie kryteriów stosowanych przy rozróżnianiu różnych poziomów wsparcia kładów (np. bardzo niski, niski, wysoki, bardzo wysoki). Czy granice te zostały ustalone subiektywnie, czy też opierały się na wytycznych z innych publikacji naukowych?

Ponadto graficzna prezentacja drzew filogenetycznych i ich omówienie w tekście wydają się nieco chaotyczne. Kandydat zaczyna od omówienia kładu (*Julienaclia*, *Kowalskinaclia*, *Melanonaclia*), co nie przekłada się na najbardziej intuicyjną kolejność czytania. Dla jasności drzewa powinny być odpowiednio obrócone, a dyskusja powinna przebiegać według logicznej kolejności:

1) *Toulgoetinaclia* jako kład siostrzany dla wszystkich pozostałych; 2) (*Tritonaclia*, *Thyrosticta*, *Dubianaclia*, *Mauricenaclia*, *Pseudonaclia*, *Dysauxes*); 3) (*Julienaclia*, *Kowalskinaclia*, *Melanonaclia*); 4) (*Mortinaclia*, *Micronaclia*, *Riconnaclia*, *Skippernaclia*, *Maculonaclia*, *Privatenaclia*).

Ilustrowane jaja *Mauricenaclia minuta* (ryc. 32, 33) nie są dobrze zachowane. Podczas przygotowywania próbki doktorant polegał wyłącznie na dehydratacji przy wzrastających stężeniach etanolu. Można by jednak zastosować metody alternatywne, takie jak suszenie w punkcie krytycznym za pomocą CO₂ czy zanurzenie w HMDS (heksametylodisilazanie). Techniki te pozwalają na lepsze zachowanie naturalnego kształtu struktur o miękkim ciele.

Dyskusję zawartą w trzeciej części rozprawy (manuskrypt złożony w „Zoological Journal of the Linnanean Society”) należałoby nieco przeredagować, aby uniknąć powtarzania w wielu miejscach informacji z rozdziału poświęconego wynikom.

Uwagi redakcyjne dotyczące trzeciej części rozprawy (manuskrypt złożony w „Zoological Journal of the Linnanean Society”):

Strona 107, wiersz 7 od góry – należy zamienić przecinek na kropkę przed słowem „However”.

Strona 111, wiersz 7 od góry – należy usunąć dodatkową spację.

Strona 111, wiersz 8 od góry – należy poprawić literówkę: „Melanonclia” -> „Melanonaclia”.

Strona 129, wiersz 14 od dołu – „Hindwing” należy zapisać małą literą.

Strona 134, wiersze 13-16 od dołu – nieprawidłowe formatowanie tekstu.

Strona 137, wiersze 6-10 od dołu – nieprawidłowe formatowanie tekstu.

Strona 141, wiersze 8-9 od góry – nieprawidłowe formatowanie tekstu.

Strona 151, wiersze 7-8 od dołu – nieprawidłowe formatowanie tekstu.

Strona 224, wiersz 7 od góry – *Tritonaclia inauramacula* należy zapisać kursywą.



Strona 259, wiersze 13-14 od dołu – nieprawidłowe formatowanie tekstu.

Ogólnie rzecz biorąc, rozprawa spełnia wysokie standardy naukowe. Wdrożenie sugerowanych zmian i udoskonalień metodologicznych jeszcze bardziej wzmocniłoby jej naukową poprawność i przejrzystość.

6. Podsumowanie

Przedmiotowa rozprawa dostarcza nowych, oryginalnych danych morfologicznych i genetycznych na temat słabo dotychczas poznanych motyli z plemienia Syntomini, występujących na Madagaskarze. Dzięki skutecznemu zastosowaniu metod taksonomii integratywnej doktorant dostosowuje się do nowoczesnych podejść i standardów w badaniach nad taksonomią, systematyką i filogenezą owadów. Jego wiodąca rola w przygotowaniu rozprawy jest bezdyskusyjna. Uważam, że mgr Marcin Wiorek wykazał się umiejętnością prowadzenia efektywnych badań naukowych oraz opracowywania wyników i prezentowania ich w formie rozprawy naukowej.

Ja, niżej podpisany, potwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgra Marcina Wiorka spełnia wymagania określone w art. 13 ust. 1 (lub w przypadku zbioru artykułów w art. 13 ust. 2) ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1789, z późn. zm.) i rekomenduję Radzie Naukowej Instytutu Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN dopuszczenie mgra Marcina Wiorka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

(-) podpis nieczytelny

Prof. dr hab. Krzysztof Szpila
Katedra Ekologii i Biogeografii
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK
ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń, Polska,
tel. +48 56 611 26 49, email: szpila@umk.pl

Ja, tłumacz przysięgły języka angielskiego, Katarzyna Dobrowolska, wpisana na listę tłumaczy przysięgłych prowadzoną przez ministra sprawiedliwości pod numerem TP/4306/05, niniejszym zaświadczam zgodność powyższego tłumaczenia z oryginałem dokumentu w języku angielskim.
Sopot, 9 kwietnia 2025

Rep. Nr 862/2025

