



dr hab. Roma Durak, prof. UR
Instytut Biologii
Uniwersytet Rzeszowski
ul. Pigoń 1
35-310 Rzeszów

Rzeszów, 23.09.2023

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Anny Paśnik pt. „Systematyka i filogeneza afrykańskich motyli z rodzaju *Apisa*” wykonana pod kierunkiem dr hab. Łukasza Przybyłowicza

Rozprawa doktorska Pani mgr Anny Paśnik to cykl trzech spójnych tematycznie artykułów naukowych. Dwa z nich zostały opublikowane w latach 2022 – 2023, trzeci został wysłany do czasopisma naukowego i jest w trakcie procedury wydawniczej, do rozprawy doktorskiej został załączony jego manuskrypt. Prace opublikowane ukazały się w bardzo dobrych czasopismach o charakterze zoologicznym i zasięgu międzynarodowym, znajdujących się w wykazie czasopism naukowych MNiSW i indeksowanych przez JCR: w *Zootaxa* oraz *Arthropod Systematics & Phylogeny*. W pierwszej z prac Pani mgr A. Paśnik jest jedynym autorem, w drugim artykule jest pierwszym autorem natomiast w manuskrypcie jest autorem pierwszym i korespondencyjnym. Jednoznacznie wskazuje to na kluczową rolę Pani mgr w procesie przygotowania publikacji, co potwierdzili Współautorzy artykułów. Oznacza to, że Pani mgr A. Paśnik była odpowiedzialna lub uczestniczyła w opracowaniu koncepcji manuskryptów, zaprojektowaniu eksperymentów, wykonaniu preparatów i przeprowadzeniu analiz morfologicznych, przeprowadzeniu prac laboratoryjnych i analizie wyników molekularnych, przygotowaniu wyników badań w postaci tabel i rycin, interpretacji wyników, przeprowadzeniu analiz filogenetycznych oraz przygotowaniu treści manuskryptów. Wskazuje to na wyjątkową samodzielność Doktorantki, z drugiej strony na umiejętność pracy w zespole.

Cel i hipotezy badawcze

Celem badań przeprowadzonych przez mgr A. Paśko, było określenie powiązań filogenetycznych a także wyjaśnienie problemów taksonomicznych oraz zmienności wewnątrz i międzygatunkowej rodzaju *Apisa*. W związku z tym, że jest to rodzaj wyjątkowo jednolity morfologicznie i bez wyraźnie zaznaczonego dymorfizmu płciowego, a co za tym idzie trudny w weryfikacji, podjęcie tej tematyki badawczej wydaje się uzasadnione. Doktorantka postawiła cztery hipotezy badawcze: (1) grupa stanowi zbiór gatunków kryptycznych i liczy więcej taksonów niż dotychczas opisano, (2) rodzaj *Apisa* stanowi grupę monofiletyczną, (3) dotychczasowy podział na podrodzaje jest sztuczny i nie odzwierciedla pokrewieństw między taksonami, (4) podejście integratywne pozwala na wyjaśnienie problemów systematycznych i filogenetycznych w obrębie rodzaju *Apisa*, które następnie poddała weryfikacji w kolejnych publikacjach.



Materiały i Metody

We wszystkich artykułach część metodyczna pracy jest prezentowana bardzo szczegółowo, wskazując na szeroki zakres umiejętności, które posiadała Doktorantka w trakcie swoich badań. Badania zostały zaplanowane kompleksowo i obejmowały badania morfologiczne i molekularne. Materiał do badań został pozyskany z europejskich kolekcji muzealnych, kolekcji prywatnych oraz zbiorów ISEZ PAN. Na podstawie samodzielnie wykonanych preparatów mikroskopowych aparatów genitalnych, łusek oraz stóp Autorka przeprowadziła analizę morfologiczną wykorzystując mikroskop stereoskopowy oraz elektronowy mikroskop skaningowy (SEM). Część laboratoryjna badań obejmowała analizy molekularne z wykorzystaniem trzech markerów. Takie podejście metodyczne, oparte na kilku markerach molekularnych uważam za prawidłowe i optymalne w przeprowadzaniu analiz filogenetycznych. Należy podkreślić, że nowo otrzymane sekwencje zostały wprowadzone do GenBanku, a nowo opisane gatunki umieszczone w Oficjalnym Rejestrze Nomenklatury Zoologicznej (ZooBank), co stanowi wartościowy wkład w naukę. Na podstawie uzyskanych danych przeprowadzono następnie analizy filogenetyczne oraz analizy wyznaczania granic gatunków z wykorzystaniem standardowych oraz zaawansowanych narzędzi wykorzystywanych w taksonomii molekularnej. Szczególnie wysoko oceniam podejście integratywne Autorki do rozwiązywania problemów systematycznych i filogenetycznych. Przeprowadzone przez mgr A. Paśnik analizy to doskonały przykład wykorzystania i skorelowania informacji pozyskanych metodami morfologicznymi i molekularnymi. Jednocześnie przeprowadzone badania wykazały ograniczenia jakie wynikają z zastosowania takiego podejścia.

Wyniki i ich dyskusja

Rozdziały prezentujące wyniki są napisane w przejrzysty sposób i poparte wieloma starannie przygotowanymi rycinami i tabelami. Materiał zdjęciowy, prezentujący poszczególne osobniki, a także struktury widoczne przy użyciu mikroskopu świetlnego oraz skaningowego, są wykonane niezwykle czytelnie, dzięki czemu analiza wielu wyników jest dla odbiorcy łatwiejsza.

Do najważniejszych wyników przedstawionej rozprawy doktorskiej zaliczam:

- potwierdzenie monofiletyczności rodzaju *Apisa*, w oparciu o dane morfologiczne i genetyczne oraz wykazanie braku obecności arolium jako istotnej cechy autapomorficznej rodzaju *Apisa*;
- identyfikację i opisanie 3 nowych gatunków: *Apisa atrovenosa*, *A. asipa*, *A. diversa*;
- wykonanie redeskcypcji gatunków *A. subargentea*, *A. cinereocostata*, *A. subcanescens*, *A. arabica*;
- wykazanie wysokiej zmienności wewnątrzgatunkowej *A. (P.) cinereocostata*, na podstawie przeprowadzonych cech morfologicznych (zmienność barwy skrzydeł, budowa aparatów genitalnych) oraz otrzymanych 26 haplotypów na podstawie sekwencji COI, różnicujących ten gatunek w zależności od miejsca występowania oraz formy barwnej;



- opracowanie klucza do oznaczania gatunków z rodzaju *Apisa* opartego o cechy morfologiczne (samcze narządy płciowe);
- utworzenie listy gatunków należących do rodzaju *Aphisa*, zawierającej nowo opisane taksony;
- wykazanie, że podział na 3 podrodzaje jest sztuczny (wykazano brak monofiletyzmu i cech autapomorficznych), a obserwowane modyfikacje morfologiczne są wynikiem niezależnej ewolucji cech, czego konsekwencją jest synonimizacja podrodzajów *Dufraneella* i *Parapisa* z *Apisa*;
- wykazanie dużej różnorodności morfogenetycznej rodzaju *Apisa*, wskazującej na obecność wielu gatunków kryptycznych;
- szczególne znaczenie i wkład w naukę będą miały przygotowane przez Autorkę barwne tablice prezentujące budowę oraz zmienność aparatów genitalnych oraz imago poszczególnych gatunków.

Interpretacja wyników jest prawidłowa i wszechstronna. Prace są dobrze powiązane z dostępną literaturą, uwzględniając zarówno materiały starsze jak i najnowsze doniesienia. Trzeci manuskrypt stanowi podsumowanie wcześniej uzyskanej wiedzy na temat rodzaju *Apisa*. Dyskusja uzyskanych wyników wskazuje na dużą dojrzałość Doktorantki, która w swojej interpretacji wyników wskazuje na duże zróżnicowanie *Apisa*, nie podejmuje się jednak jednoznacznego opisu nowych taksonów i wskazuje na konieczność dodatkowych analiz. Szczególnie obiecująca wydaje się pozycja taksonomiczna oraz filogenetyczna *A. canescens*, który jak potwierdziła mgr A. Paśnik, jest konglomeratem większej ilości gatunków i wykazuje dużą różnorodność morfologiczną i genetyczną. Na podstawie przeprowadzonych analiz Doktorantka jasno wskazuje, że zastosowanie integratywnej metodologii nie zapewniło jednoznacznej interpretacji wyników.

W mojej ocenie, badania prowadzone i przedstawione jako rozprawa doktorska, przez mgr Annę Paśnik, są wartościowe. Odpowiednio dobrane narzędzia umożliwiły Doktorantce zrealizowanie wszystkich celów badawczych i weryfikację postawionych hipotez. Wysoko oceniam dobór tematyki badawczej będącej próbą określenia powiązań filogenetycznych oraz zmienności w obrębie rodzaju *Apisa*, który okazał się niezmiernie trudnym taksonem. Gatunki kryptyczne są istotnym problemem nie tylko w obrębie rodzaju *Apisa*, ale również mogą stanowić znaczny udział w globalnej bioróżnorodności, a co za tym idzie prawidłowa ich delimitacja jest kluczowa dla ochrony różnorodności biologicznej i zrozumienia procesów ewolucyjnych.

Po przeanalizowaniu pracy doktorskiej nasunęły mi się dwa pytania:

1. Na jakiej podstawie zostały wybrane jądrowe markery molekularne do analiz *Apisa*?
2. Czy w związku z uzyskanymi wynikami, istnieje możliwość wyznaczenia cech morfologicznych filogenetycznie informatywnych dla rodzaju *Apisa*? Czy Autorka ma jakieś przypuszczenia i dalsze plany w poszukiwaniu takich cech, np. gruczoły feromonowe?



Podsumowując, stwierdzam, że w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej, w postaci cyklu publikacji naukowych, jasno sformułowano problemy badawcze, ustalono cele i hipotezy badawcze. Tematyka prac jest spójna, a ostatnia publikacja stanowi podsumowanie całości przeprowadzonych badań. Z całą pewnością przedstawiona rozprawa doktorska stanowi oryginalny wkład w problematykę współczesnej taksonomii.

Uważam, że cykl prac przedstawiony przez Panią mgr Annę Paśnik, spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 14 ust. 2 pkt 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz.U. z 2017r., poz. 1789 ze zm.) oraz w art. 179 ustawy z dnia 23 lipca 2018r., Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018r. poz. 1669 ze zm.), i wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę wysoki poziom merytoryczny i szeroki zakres badań a także umiejętne przygotowanie rozprawy, rekomenduję Radzie Naukowej Instytutu Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN wyróżnienie przedstawionej pracy doktorskiej.

Ryszard Durlik