

Dr hab. Maria Grochowska

Zakład Zoologii, Instytut Biologii i Biochemii UMCS

ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Recenzja pracy doktorskiej mgr Miłosza Owieśnego

pt. „Relacje pokrewieństw między europejskimi gatunkami z rodzaju *Gymnosoma* (Diptera: Tachinidae) z wykorzystaniem analizy cech morfologicznych i molekularnych”

Przedstawione opracowanie stanowi morfologiczną i molekularną analizę europejskich gatunków z rodzaju *Gymnosoma* (Diptera, Tachinidae). Rozprawa składa się z 8 rozdziałów i dwu załączników. Tekst liczy łącznie 141 stron wydruku komputerowego oraz 34 barwne tablice. Praca składa się z następujących rozdziałów:

1. Wstęp (33 str.)
 - 1.1 Biologia
 - 1.2. Budowa morfologiczna
 - 1.2.1. Jajo
 - 1.2.2. Larwa
 - 1.2.3. Poczwarzka
 - 1.2.4. Imago
2. Materiały i metody (13 str.)
 - 2.1. Analiza cech morfologicznych
 - 2.2. Analiza cech molekularnych
 - 2.2.1 Izolacja materiału genetycznego
 - 2.2.2. Metoda największej wiarygodności
 - 2.2.3 Metoda bayesowska
3. Wyniki (48 str.)
 - 3.1. Charakterystyka rodzaju i gatunków *Gymnosoma*
 - 3.2. Klucz do oznaczania gatunków z rodzaju *Gymnosoma*
 - 3.3. Cechy molekularne
 - 3.3.1. Izolacja materiału genetycznego
 - 3.3.2. Metoda największej wiarygodności
 - 3.3.3. Metoda bayesowska
4. Dyskusja (10 str.)

5. Literatura (16 str.)
6. Spis tabel (1 str.)
7. Spis rycin (2 str.)
8. Spis fotografii (1 str.)
9. Załącznik 1. Wykaz sekwencji COI uzyskanych dla poszczególnych gatunków *Gymnosoma* (11 str.)
10. Załącznik 2. Tablice barwne (38 str.)

Recenzowana rozprawa dotyczy wszystkich (12) znanych z Europy gatunków muchówek należących do rodzaju *Gymnosoma*, który przynależy do rodziny Tachinidae. W skali światowej rodzina ta liczy 32 gatunki. Wszystkie są parazytoidami pluskwiaków różnoskrzydłych (Heteroptera).

We wstępie pracy podano stanowisko systematyczne analizowanych gatunków, zasięgi ich występowania na kontynencie europejskim oraz historię badań. W tej części pracy autor na podstawie dostępnej mu literatury opisuje biologię muchówek z rodzaju *Gymnosoma* oraz omawia budowę morfologiczną wszystkich stadiów rozwojowych występujących w rodzaju *Gymnosoma* ze szczególnym zwróceniem uwagi na cechy morfologiczne osobników dorosłych. Celem pracy była:

1. analiza dotychczas znanych cech kluczowych gatunków *Gymnosoma*, ich weryfikacja z jednoczesnym wskazaniem na cechy istotne, które dotychczas nie były brane pod uwagę przy oznaczaniu gatunków należących do tego rodzaju
2. weryfikacja analizy morfologicznej po zestawieniu danych uzyskanych w wyniku badań morfologicznych i analiz molekularnych.

W rozdziale 2 „Materiały i metody” wskazano na źródło pochodzenia materiału, który był przedmiotem badań (poszukiwania terenowe, okazy muzealne z Polski i Europy, prywatne kolekcje). Omówiony został sposób prowadzenia analizy morfologicznej okazów oraz szczegółowo opisano etapy badań molekularnych.

Rozdział 3 „Wyniki” stanowi najważniejszą część pracy. Autor szczegółowo omawia morfologię dziesięciu gatunków *Gymnosoma* występujących w Europie. Opisy gatunków zostały sporządzone w sposób przejrzysty i zilustrowane barwnymi fotografiami. Każdemu opisowi towarzyszą informacje o synonimach, materiale badawczym poddanym szczegółowej analizie ze wskazaniem źródła pochodzenia poszczególnych egzemplarzy owadów oraz uwagi autora dotyczące jego własnej oceny cech, które obecnie są brane pod

uwagę przy oznaczaniu gatunków z rodzaju *Gymnosoma*. Na zakończenie części morfologicznej został zamieszczony klucz do oznaczania europejskich gatunków z rodzaju *Gymnosoma*. Znaczna część rozdziału „Wyniki” poświęcona jest określeniu cech molekularnych gatunków *Gymnosoma* oraz ich analizie. Stanowią one podstawę skonstruowania drzewa filogenetycznego uwzględnionych przez autora gatunków i ustalenia między nimi relacji pokrewieństw. Dwa gatunki *G. brachypeltae* i *G. carpocoridis* zostały przedstawione bardzo pobieżnie ze względu na to, że autorowi mimo usilnych starań (poszukiwania terenowe i liczne prośby o eksponaty muzealne) nie udało się zdobyć egzemplarzy, które mogłyby poddać analizie.

Część 4. W rozdziale „Dyskusja” autor dokonuje wartościowania i weryfikacji cech morfologicznych na podstawie których europejskie gatunki z rodzaju *Gymnosoma* są obecnie wyodrębniane. W tym zakresie konfrontuje otrzymane podczas badań wyniki z opiniami innych autorów, aby przedstawić własne stanowisko co do poprawności wyodrębnienia gatunków. W podsumowaniu celów pracy stwierdza, że przeprowadzona przez niego analiza dotychczas wyróżnianych cech kluczowych dla poszczególnych gatunków, ich weryfikacja i wskazanie cech nowych na obecnym etapie poznania rodzaju *Gymnopoda* pozwalają na oznaczanie przedstawicieli rodzaju *Gymnopoda*. Jednocześnie ustosunkowuje się do otrzymanych wyników badań molekularnych, które wg niego nie pozwoliły na jednoznaczne określenie taksonomicznego statusu obecnie znanych gatunków (wyodrębnionych na podstawie cech morfologicznych) oraz wzajemnych relacji międzygatunkowych. W konsekwencji autor zestawiając dane morfologiczne z wynikami analiz molekularnych dochodzi do wniosku, że badania genetyczne nie rozwiązały problemu identyfikacji gatunków należących do rodzaju *Gymnopoda*, wskazując na potrzebę prowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

Część 5. „Literatura” Wykaz piśmiennictwa obejmuje 210 pozycji i trzy adresy internetowe, a ich dobór w pełni jest uzasadniony.

Część 6. „Spis tabel” zawiera wykaz 7 tabel.

Część 7. „Spis rycin” obejmuje wykaz 34 rysunków

Część 8. „Spis fotografii” zawiera wykaz 14 zdjęć

W **załączniku 1.** zamieszczono wykaz sekwencji COI uzyskanych dla poszczególnych gatunków *Gymnosoma*

Załącznik 2. zawiera 37 tablic barwnych stanowiących ilustrację cech morfologicznych u analizowanych w rozprawie gatunków z rodzaju *Gymnopoda*.

Stwierdzam, że treść rozprawy w pełni odpowiada tematowi. Konstrukcja pracy jest poprawna. Definicje i nazwy nie budzą zastrzeżeń. Problematyka cytowanych pozycji literatury jest bardzo szeroka i w pełni ilustruje problem w ramach którego został opracowany temat przedłożonej rozprawy doktorskiej.

Pojawiły się jednak pewne niejednoznaczności, które wymagają wyjaśnienia i ewentualnej korekty. W rozdziale „Dyskusja” (str. 108, przedostatni akapit) doktorant pisze, że analiza dotychczas wyróżnianych cech kluczowych dla poszczególnych gatunków, ich weryfikacja i wskazanie nowych cech, pozwoliły mu na prawidłowe oznaczanie poszczególnych gatunków z rodzaju *Gymnopoda*. Jednocześnie stwierdza (str. 107, koniec piątego akapitu) że „obecne wyróżnianie gatunków w obrębie rodzaju opierające się na cechach morfologicznych jest nieprawidłowe”, a „część opisanych gatunków prawdopodobnie wyróżniona została błędnie” (str. 109 trzeci akapit). W tym samym tonie została sformułowana wypowiedź zawarta w akapicie drugim (str. 109), gdzie autor zauważa, że na podstawie prostych testów molekularnych brak jest możliwości jednoznacznej identyfikacji aż 8 spośród 10 gatunków, które poddał szczegółowej analizie genetycznej. W końcu rodzi się istotne pytanie – Czy biorąc pod uwagę dane z literatury oraz wyniki analizy przedstawione w przedłożonym opracowaniu istnieje możliwość poprawnej determinacji występujących w Europie gatunków z rodzaju *Gymnopoda* czy też takiej możliwości nie ma?

O ile trudno się nie zgodzić z tezą, że obecne problemy z wyróżnianiem gatunków *Gymnosoma* mogą wynikać z bardzo dużej wewnątrzgatunkowej zmienności cech morfologicznych (str. 108 pierwszy pełny akapit), to już próba uzasadnienia powyższej tezy nie jest do końca przekonująca. W moim odczuciu autor usiłował wykorzystać do tego celu obserwacje nad biologią *Gymnosoma*. Interesującym jest w jaki sposób żywiciel (odpowiedni gatunek pluskwiaka, jego wielkość, stadium rozwoju) wpływa na cechy morfologiczne swego pasożyta, którym jest muchówka z rodzaju *Gymnosoma*. Niezrozumiale zostało przedstawione (bardzo interesujące skądinąd) zjawisko występowania mimetyzmu chromatycznego upodobiającego imagines *Gymnosoma* do larw niektórych gatunków żywicieli, a właściwie jego znaczenie. Autor w pierwszym zdaniu drugiego pełnego akapitu (str. 108) powołuje się na obserwacje terenowe (rozumiem, że własne) i analizę biologii (w tym relacje z żywicielem) gatunków *Gymnosoma*. Nieco dalej w tym samym akapicie mówi o braku danych na ten temat w literaturze aby ostatecznie poddać w wątpliwość znaczenie tego mimetyzmu dla żywiciela (pluskwiaka) i pasożyta (muchówki).

Czym należy wyjaśnić brak występowania w Polsce *G. brachypeltae* (ryc. 1), *G. carpocoridis* (ryc. 2) i *G. rungsi* (ryc. 11) skoro wszystkie te gatunki wykazano z krajów sąsiednich (*G. brachypeltae* – Niemcy, Czechy i Słowacja; *G. carpocoridis* Niemcy, *G. rungsi* – Ukraina, Białoruś.)? Dlaczego autor nie dysponował ani jednym egzemplarzem *G. inornatum* z Polski skoro wg ryc. 7 (str. 8) zasięg jego występowania obejmuje południowo-środkową część Europy w tym i całą Polskę.

Pewne wątpliwości budzi sama redakcja celów pracy, gdzie użyte zostały sformułowania typu „ewentualne”, zestawione zostaną „powinno”, co w pewnym sensie zdradza brak pewności autora co do podjętych działań w ramach realizacji tematu pracy.

W pracy zabrakło danych o liczebności zgromadzonych przez doktoranta egzemplarzy *Gymnosoma* w terenie oraz wyjaśnienia czemu miała służyć analiza materiału pochodząca z innych kontynentów (Azja) skoro w temacie rozprawy wyraźnie zaznaczono, że chodzi o gatunki europejskie.

Pojawiły się również inne, drobne nieścisłości:

W materiale przy opisie *G. desertorum* (str. 63) autor podaje stanowisko jego występowania w Polsce. Jednak na mapce przedstawiającej zasięg występowania gatunku (str. 8 ryc. 5) brak informacji o tym, że występuje w Polsce

Na stronie 32 (przedostatni akapit), niewłaściwie zastosowane są odnośniki do rysunków co sprawia, że omawiane wyżej zagadnienia są w mniejszym stopniu zrozumiałe.

Str.30, ryc. 23, wystąpił błąd – na rysunku przedstawiono puparium, a nie imago.

Fot. 10. (str. 34) nieprawidłowe oznaczenia na rysunku: cua1, CuA1, dm-cu (małe litery). W opisie rysunku: r- komórka radialna (wystąpiło dwukrotnie)

Str. 63 (akapit dotyczący opisu głowy - wiersz 9) autor opisuje cechy charakterystyczne dla obu płci ale powołuje się na ilustrację przedstawiającą samca. Nie została zamieszczona informacja, że autor poddał analizie wyłącznie egzemplarz płci męskiej.

Str. 74 (ostatni wiersz przed opisem odwłoka) Tabl. 21 fot A, B nieprawidłowe powołanie się na tabelę

Str. 92 (ostatni wiersz) dotyczy „sternit 8” brak zgodności tej cechy z rysunkiem na który powołuje się autor (Tabl. 16 fot. C) i opisem w tekście przy opisie gatunku *G. dolycordis* (str. 68, przedostatni wiersz drugiego akapitu).

W rozdziale „Wyniki” przy charakterystyce każdego z gatunków rodzaju *Gymnosoma* odczuwa się wyraźny brak informacji o płci osobników wymienionych w materiale poddanym szczegółowej analizie.

Szkoda, że autor nie wykonał rysunku szkieletu cefalofaryngialnego *G. clavatum* skoro dysponował puparium należącym do tego gatunku. Tym bardziej, taki rysunek byłby cenny ponieważ w literaturze brak jest tego typu danych.

Występują błędy literowe, które przekażę bezpośrednio autorowi pracy.

Podsumowując: recenzowane opracowanie jest bardzo potrzebne, ponieważ zwraca uwagę na bardzo interesującą grupę pasożytniczych muchówek z rodzaju *Gymnosoma* i poważne problemy związane z ich determinacją. Przedłożona praca stanowi podsumowanie badań nad europejskimi gatunkami *Gymnosoma* oraz wytycza ich dalsze kierunki nad tą słabo poznaną grupą owadów (np. bardziej szczegółowe opracowania morfologii oraz badania nad biologią). Autor pomimo wielu trudności zrealizował wcześniej wytyczone cele.

Przedstawione opracowanie jest rozprawą doktorską, która w mojej opinii (mimo wymienionych wyżej uwag krytycznych) spełnia warunki określone w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym z dn. 14 marca 2003 roku*. **Zwracam się więc do Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Miłosza Owieśny do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Lublin 10. 04.2015 r.

dr hab. Maria Grochowska

