

Recenzja pracy doktorskiej mgr **Lidii Agnieszki Sworobowicz**

pt.

„Filogeografia ośliczki *Asellus aquaticus* (L.) (Crustacea: Isopoda) w Europie”

(„Phylogeography of water louse *Asellus aquaticus* (L.)(Crustacea: Isopoda) in Europe”)

przygotowanej pod kierunkiem naukowym dr hab. Anny Wysockiej, prof. UG

Wzorce rozmieszczenia organizmów żywych są wypadkową wielu czynników, a najważniejszymi z nich są: ukształtowanie terenu, klimat oraz historia geologiczna danego obszaru. Klasyczna taksonomia zwierząt, oparta głównie na morfologii i anatomii, była ważnym krokiem w procesie rozumienia i opisywania zróżnicowania organizmów żywych, jednak dopiero rozwój technik molekularnych pozwolił na pełny wgląd w zmienność na poziomie sekwencji DNA. Pozwala to m. in. na weryfikowanie koncepcji filogenetycznych i filogeograficznych, weryfikowanie tradycyjnej taksonomii, a także na tworzenie wiarygodnych scenariuszy odtwarzających przebieg procesów prowadzących do obecnego rozmieszczenia taksonów. Szczególnie interesującymi organizmami w tego typu badaniach są gatunki o szerokim rozmieszczeniu i mało zróżnicowanej morfologii, czego przykładem jest ośliczka wodna (*Asellus aquaticus*). Gatunek ten został wybrany przez Panią mgr Lidie Agnieszkę Sworobowicz jako temat jej rozprawy doktorskiej. Praca ta napisana jest w języku angielskim i składa się z trzech części. Dwie z nich – Rozdziały I i II (Chapter I i II) – to dwa artykuły naukowe, opublikowane w czasopiśmie *Freshwater Biology*, którego *Impact Factor* w roku publikacji pierwszego z nich (2015) wynosił 3,97, natomiast obecnie (rok publikacji drugiego artykułu to 2020) jest niewiele niższy (3,83). Publikacja wyników badań w tak renomowanym czasopiśmie jest już samo w sobie doskonałą ich rekomendacją. Należy podkreślić, że w obydwu tych artykułach Doktorantka jest pierwszą autorką. Trzecią część

rozprawy doktorskiej stanowi umieszczone na jej początku podsumowanie (Summary), które (zgodnie z tytułem) zawiera zestawienie najważniejszych wyników z dwóch wspomnianych wcześniej artykułów, ale też obejmuje pewne rozważania nie zawarte w oryginalnych publikacjach. Z tego też powodu, część tę omówię w dalszej części recenzji, po przedstawieniu najważniejszych tez prac opublikowanych.

Rozdział I: „Revisiting the phylogeny of *Assellus aquaticus* in Europe: insights into cryptic diversity and spatiotemporal diversification”

Celem pierwszej z dwóch oryginalnych, opublikowanych prac badawczych było odtworzenie filogenezy *A. aquaticus* w Europie. Zagadnienie to było już wcześniej badane, jednak w znacznie mniejszej skali niż ta prezentowana w pracy Doktorantki i jej Współautorów.

Do osiągnięcia założonego celu wykorzystano analizę zmienności dwóch markerów genetycznych: mitochondrialnego COI i jądrowego 28S rRNA. O rozmachu badań świadczy liczba i rozmieszczenie miejsc pobierania próbek – było to 80 stanowisk pokrywających praktycznie całą Europę, z których pobrano 236 osobników ośliczki. Otrzymane w ten sposób sekwencje COI zostały uzupełnione dostępnymi w GenBanku, pochodzącymi z wcześniejszych badań sekwencjami referencyjnymi, co dało sumaryczną liczbę 603 sekwencji tego markera. Nie jest zaskakującym, że najwięcej wniosków dostarczyła właśnie analiza COI, będącej standardowym w tego typu badaniach markerem genetycznym. Zwraca uwagę szerokie spektrum zastosowanych w pracy analiz filogenetycznych, od tych najbardziej podstawowych do zdecydowanie bardziej zaawansowanych, takich jak np. wyznaczanie OTU (czyli *operational taxonomic units*) czy tworzenie sieci.

Zdecydowanie najważniejszymi wynikami tych analiz jest wyznaczenie za pomocą metody ABGD w obrębie morfogatunku *A. aquaticus* aż 13 potencjalnych gatunków kryptycznych. Jeden z nich – OTU A – ma zdecydowanie najszerszy zasięg, obejmujący większość terytorium środkowej i północnej Europy, prawdopodobnie odpowiadając podgatunkowi nominatywnemu *A. aquaticus aquaticus*, opisanemu przez Linneusza na terenie Szwecji. Rozmieszczenie pozostałych OTU jest zdecydowanie bardziej ograniczone i generalnie obejmuje południową część kontynentu, co doskonale współgra z oczekiwaniami, że najwyższa zmienność genetyczna powinna występować na obszarach, gdzie znajdowały się refugia glacialne. Analiza filogenetyczna danych dla COI, przy wykorzystaniu punktów

kalibracyjnych, wskazała że współczesne zróżnicowanie genetyczne *A. aquaticus* ma początek w środkowym Miocenie, a następnie pogłębiało się w Pliocenie i Plejstocenie.

Rozdział II: „Lasting through the ice age: The role of the proglacial refugia in the maintenance of genetic diversity, population growth, and high dispersal rate in a widespread freshwater crustacean”

Badania przedstawione w drugim z oryginalnych, opublikowanych artykułów, składających się na rozprawę doktorską mgr Sworobowicz, są naturalną kontynuacją badań zawartych w artykule pierwszym. Tym razem Doktorantka i jej Współautorzy postanowili bliżej przyjrzeć się zróżnicowaniu genetycznemu w obrębie podgatunku nominatywnego *A. aquaticus aquaticus*, zidentyfikowanemu w pierwszej pracy jako OTU A. W tym celu pozyskano osobniki z 165 stanowisk, a wykorzystanymi markerami były COI oraz jądrowy ITS2. Przynależność pozyskanych osobników do podgatunku *A. aquaticus aquaticus* potwierdzono dla 269 osobników z 76 stanowisk, i tylko te próbki były dalej analizowane (po uzupełnieniu bazy danych o sekwencje referencyjne, co dało 740 sekwencji z 187 stanowisk dla najważniejszego markera - COI).

Praca ta imponuje nie tylko rozmachem próbkowania, ale też szerokim spektrum technik użytych do odtwarzania filogenezy, analiz struktury genetycznej oraz historii demograficznej populacji. Bardzo interesującym wnioskiem wynikającym z badań zawartych w tej publikacji jest to, że zamieszkujące obecnie środkową i północną Europę populacje podgatunku nominatywnego *A. aquaticus aquaticus* najprawdopodobniej zasiedliły te tereny z refugium glacialnych na obszarze Równiny Panońskiej i/lub regionu pontyjskiego. Jest to o tyle zaskakujące, że obecnie dominuje pogląd, że tereny te w trakcie glacjałów były lodową pustynią, a refugia glacialne występowały przede wszystkim w południowej Europie i w obrębie masywów górskich. Tymczasem jest możliwe, że niektóre organizmy (jak np. ośliczka) mogły uzyskać adaptacje do życia w niesprzyjających warunkach panujących np. na Równinie Panońskiej, co pozwoliło im przetrwać i następnie, po ustąpieniu lodowca, rozpocząć rekolonizację kontynentu.

Omawiając dwie powyższe publikacje, ograniczyłem się oczywiście do zdecydowani najważniejszych wniosków z nich wynikających. Prace te (szczególnie druga) są rozbudowane i zawierają dużą ilość wyników, szeroko diskutowanych w świetle obecnego stanu wiedzy. Wartość naukową prezentowanych badań oceniam bardzo wysoko.

Jak już wspomniałem na wstępie recenzji, otwierające rozprawę podsumowanie jest nie tylko syntetycznym omówieniem wyników badań zwartych w dwóch dołączonych publikacjach, ale zawiera także dyskusję tematów w nich nie poruszonych. Chodzi tu przede wszystkim o implikacje taksonomiczne prezentowanych badań i ich wyników oraz o różnice morfologiczne w obrębie morfogatunku *A. aquaticus*. Doktorantka w tej części podkreśla, że rewizja taksonomiczna nie była celem rozprawy doktorskiej, stąd operowanie pojęciami OTU i „prawdopodobny gatunek”. W rzeczywistości, problem weryfikacji taksonomii stworzonej na bazie morfologii i anatomii u gatunków wykazujących niewielkie różnice morfologiczne jest zjawiskiem bardzo powszechnym i wymaga podejścia łączącego dane genetyczne i morfologiczne oraz anatomiczne, dlatego kluczowe jest tworzenie jak największej bazy danych, mogących później służyć do tego celu.

Prezentowane prace dostarczają kolejnych dowodów na to, że metody molekularne są doskonałym narzędziem do identyfikowania gatunków kryptycznych i weryfikowania taksonomii, tworzonej często jedynie na bazie cech morfologicznych. Jednocześnie potwierdzają one kluczowy wpływ refugium lądowych na rozmieszczenie fauny europejskiej, sugerując jednocześnie większe niż dotąd sądzono znaczenie terenów nizinnych w tym procesie. Dlatego też wybór tematyki badań zasługuje na pochwałę, gdyż doskonale wpisuje się w aktualne trendy naukowe w biologii ewolucyjnej. Należy podkreślić, że wnioski wynikające z prezentowanych badań mają znaczenie nie tylko dla wąskiego grona badaczy skorupiaków wodnych, ale mają zdecydowanie wydźwięk uniwersalny. Potwierdza to fakt, że pierwsza z publikacji (wydana w 2015 roku), była już zacytowana 16 razy. Bez wątpienia praca druga również zostanie dostrzeżona i będzie często cytowana.

Strona edytorska rozprawy doktorskiej jest bez zarzutu. Obydwa opublikowane wcześniej artykuły są zawarte w wersji oryginalnej, czyli mają układ wydawniczy. Dołączono też do nich materiały dodatkowe, w oryginale występujące tylko w wersji elektronicznej. Otwierające pracę podsumowanie jest napisane i zredagowane profesjonalnie, nie stwierdziłem w nim żadnych uchybień językowych, dotyczących sposobu cytowania czy też najzwyklejszych literówek (poza jedną, którą Doktorantka popełniła w swoim własnym nazwisku – cytacja na dole strony 10).

Podsumowując, stwierdzam że recenzowana rozprawa spełnia wszelkie wymagania ustawowe stawiane pracom doktorskim, dlatego wnoszę o dopuszczenie Pani mgr. Lidii Agnieszki Sworobowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc

pod uwagę wysoki poziom merytoryczny przedstawionych przez Doktorantkę badań oraz fakt opublikowania ich w wysoko punktowanym czasopiśmie, wnioskuje o wyróżnienie pracy.



Dr hab. Artur Osikowski, prof. UR