

dr hab. Marcin Sielezniew
Zakład Zoologii Bezkręgowców
Instytut Biologii
Uniwersytet w Białymstoku

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Wiktorii Szydło „Zmienność genetyczna, specyficzność żywicielska i zdolność do przenoszenia wirusa mozaiki smugowatej pszenicy (WSMV) w obrębie kompleksu gatunków *Aceria tosichella*”

Aceria tosichella (WCM) należy do najintensywniej badanych szpecieli, zarówno ze względu na znaczenie gospodarcze, jak również ekologię i niejasny status taksonomiczny. Polimorfizm genetyczny nie korelujący ze zróżnicowaniem morfologicznym czyni ten takson modelowym w badaniu kryptycznej specjacji. Badania ujęte w doktoracie mgr Wiktorii Szydło stanowią element wieloletnich intensywnych prac prowadzonych nad *A. tosichella* w Zakładzie Taksonomii i Ekologii Zwierząt UAM, w które zaangażowana była Doktorantka. Warto podkreślić, że jest ona współautorką szeregu wartościowych artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach (nie tylko akarologicznych) i które mimo, że powstały w czasie jej prac nad doktoratem, to materiałowo się jednak z nim nie pokrywają. Choć rozprawa doktorska nie przynosi przełomowych wniosków np. w kontekście nominowania nowych gatunków, to i tak stanowi istotny wkład w poznanie tego fascynującego i ważnego taksonu. Jestem przekonany, że jej efektem będą kolejne publikacje. Uzyskanie zaprezentowanych wyników wymagało ogromnego nakładu pracy i konieczności wykorzystania wielu różnorodnych metod badawczych, zarówno w terenie jak i w laboratorium, a ponadto zastosowania szeregu programów przy samej analizie wyników.

Recenzowana rozprawa przygotowana została w sposób klasyczny i typowy dla manuskryptów z podziałem na „Wstęp”, „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusję”, „Podsumowanie i wnioski” oraz „Bibliografię” liczącą ponad 200 pozycji, z których aż 14 jest autorstwa lub współautorstwa Doktorantki! Na końcu znalazły się ponadto „Materiały uzupełniające”, „Fotografie” oraz „Informacja o źródłach finansowania i podziękowania”.

Po względem merytorycznym w rozprawie można wyróżnić trzy powiązane ze sobą części: 1) część ekologiczną, której głównym motywem jest specyficzność względem żywicieli; 2) część genetyczną obejmującą analizy prób pobranych z różnych żywicieli jak również sekwencji z GenBanku pochodzących w większości z wcześniejszych badań, w które zaangażowana była Doktorantka; 3) część eksperymentalną dotyczącą zdolności przenoszenia WSMV przez *A. tosichella*. Te trzy kluczowe zagadnienia wpływają na strukturę poszczególnych rozdziałów pojawiając się w nich w tej samej logicznej kolejności.

Obszerny „Wstęp” składa się z trzech podrozdziałów poświęconych charakterystyce nadrodziny szpecieli, charakterystyce samego obiektu i wreszcie przedstawieniem problemu

badawczego zakończonym wyspecyfikowaniem celów badań. Takie podejście dobrze i wystarczająco wprowadza w zagadnienie również odbiorcę, dla którego świat szpecieli jest nieco egzotyczny, choć oczywiście można dyskutować czy pewne szczegóły dotyczące budowy nie są zbędne biorąc pod uwagę ekologiczno-genetyczny charakter pracy. Osobiście brakuje mi nieco poglądowego rysunku ilustrującego budowę morfologiczną szpeciela uzupełniającego szczegółowy, ale mimo wszystko dość abstrakcyjny dla niespecjalisty opis. Szkoda też ogólnie, że wszystkie fotografie (nie tylko te ilustrujące „Wstęp”) znajdują się na końcu, a nie zostały umieszczone w stosownych miejscach w tekście. Takie rozwiązanie byłoby wygodniejsze dla czytelnika i wpłynęło też pozytywnie na samą estetykę rozprawy.

Największe moje zastrzeżenia dotyczą części ekologicznej, co wynika z bardzo heterogenicznego sposobu pobierania prób. Odnosi się to zarówno do stanowisk jak i poszczególnych gatunków. Na zasiedlenie i wszystkie z nim związane obliczane parametry (ekstensywność czyli prewalencja, intensywność oraz zagęszczenie) wpływ miało wiele czynników, których rola została pominięta lub zmarginalizowana w rozprawie. Na str. 14 czytamy, że „Optymalne dla rozwoju populacji WCM są ciepłe i wilgotne warunki (...), a czynnikiem ograniczającym jest niska wilgotność (...)”. W związku z tym nasuwa się pytanie jak zróżnicowane warunki pogodowe panujące w latach 2011-14 wpłynęły na ekstensywność i intensywność porażenia żywicieli przez WCM? Tylko w przypadku niektórych stanowisk próby były pobierane kilkakrotnie, podczas gdy na innych jednorazowo. Ponadto próby zbierane były od maja do sierpnia, a więc w przedziale, którym następuje rozwój populacji szpecieli, w tym porażanie upraw zbóż. Wreszcie warunki klimatyczne w Wielkopolsce i na Lubelszczyźnie są odmienne.

To, że termin pozyskiwania próbek miał wpływ na stopień porażenia można się przekonać analizując nawet pobieżnie Tabelę S1. Na kukurydzy i pszenicy ekstensywność wydaje się być zdecydowanie wyższa dla pędów zbieranych w drugiej części sezonu. Oczywiście efekt był ten prawdopodobnie większy w przypadku gatunków uprawnych niż nieuprawnych, które stale występują na miedzach. Trzeba też zauważyć, że nie dla wszystkich gatunków żywicieli stwierdzono porażenie nawet w szczycie sezonu. Z drugiej strony w przypadku niektórych gatunków próby były bardzo niewielkie i biorąc pod uwagę ogólnie niską ekstensywność można przypuszczać, że szpeciele po prostu mogły się nie trafić w tych próbach. Zauważyłem też, że w odniesieniu do gatunków żywicieli mniej intensywnie badanych (tj. pobrano do badań najwyżej 20 pędów), wszystkie one pochodziły z jednego stanowiska, a więc trudno powiedzieć, czy były reprezentatywne. Wydaje mi się, że lepiej dla rozprawy byłoby, gdyby liczba analizowanych żywicieli była po prostu mniejsza. Cała koncepcja zbioru próbek jest dla mnie nieco niejasna i nie znajduję w rozprawie wytłumaczenia dla dużej rozpiętości w wielkościach prób (na str. 26 można znaleźć informację, że „Próba składała się z 1-35 pędów badanego gatunku trawy wybranych losowo z danego stanowiska”).

W rozprawie brakuje mi porównań między regionami w ekstensywności i intensywności porażenia dla gatunków, które były najliczniej reprezentowane w próbach np. w postaci diagramów kołowych. Podobne porównania można było również wykonać dla prób zbieranych w różnych terminach np. grupując je na „wiosenne” i „letnie”. Ogólnie praca zyskałaby na

większej liczbie wykresów obrazujących badane zjawiska. Z kolei zauważyłem, że ryc. 2 i 3 prezentują dokładnie te same dane, które są w tabeli 7.

Z dużą ostrożnością należy również podchodzić do parametrów „zagęszczenie” i „intensywność” porażenia biorąc pod uwagę zróżnicowanie pokroju i wysokości badanych traw. Nie wydaje się dziwne, że kukurydza wypada w takich porównaniach najlepiej. Z drugiej strony termin pobrania próby na pewno również wpłynął na te parametry.

Ogólnie szacowanie specyficzności żywicielskiej na podstawie parametrów zasiedlenia wydaje mi się być najsłabszym elementem pracy biorąc pod uwagę nie uwzględnienie kilku istotnych zmiennych. Zdaję sobie przy tym sprawę z niemożności pobrania wystarczająco dużej ilości prób w tym samym czasie na wszystkich stanowiskach. Tym niemniej wydaje się, że przynajmniej w Dyskusji powinno się poświęcić nieco więcej miejsca potencjalnemu wpływowi czynników sezonowych i pogodowych.

Nie jestem przekonany czy WCM można określić mianem polifaga. Wszyscy jego żywiele są trawami, a więc przedstawicielami jednej rodziny. Moim zdaniem w związku z tym zasługuje on raczej na miano oligofaga. Oczywiście można się tu spierać, bo szpeciele są ogólnie bardzo wyspecjalizowaną grupą. Pojawiają się przy tym pytania: czy fakt, że jakaś linia był obserwowana tylko na jednym żywicielu musi oznaczać, że jest bardzo wyspecjalizowana, a jeśli tak to na czym polegają przystosowania do życia na tym czy innym gatunku? Czy ma to związek z chemizmem roślin, a może z tym, że na niektórych gatunkach żywicieli pewnym liniom łatwiej przetrwać zimę? Czy może wreszcie niektóre linie są podatniejsze na bierną dyspersję? Czytając rozprawę zastanawiałem się też jakie inne czynniki wpływają potencjalnie na zasiedlenie: zagęszczenie żywiciela, rośliny towarzyszące, ogólna struktura roślinności, ekspozycja. Może istotny jest nie tyle gatunek żywiciela, co warunki w jakich rośnie?

Tabela S1 zawierająca istotne szczegółowe dane (m.in. daty pobieranie prób z poszczególnych stanowisk) została przygotowana w języku angielskim, co dziwi jeśli się weźmie pod uwagę, że cała rozprawa jest po polsku. Tabela ta jest jednak trudna w odbiorze przede wszystkim ze względu na system kodowania. Nie bardzo rozumiem dlaczego Doktorantka nie wykorzystała praktycznie nieograniczonych możliwości jakie daje Excel i nie zamieściła kolumn zawierających nazwy stanowisk (oprócz ich ID) czy regionów, z których pochodziły próby. W tym momencie trudno zorientować się ile prób poszczególnych gatunków roślin zebrano na poszczególnych stanowiskach. Tę informację można by też z powodzeniem zamieścić w Tabeli 1 umieszczając np. po skrótach nazw gatunków roślin żywicielskich w nawiasach liczbę badanych pędów. A wracając do Tabeli S1, to wydaje mi się, że lepszym pomysłem byłoby dodanie jej jednocześnie do pracy w postaci płyty CD, aniżeli tylko ograniczenie się do zamieszczenia jej w Internecie, co czyni jej oglądanie nieco kłopotliwe. W manuskrypcie nie znalazłem niestety nawet tytułu tej tabeli.

Pewne niejasności dotyczące wyboru materiału do badań dotyczą również analiz genetycznych. Pojawiają się wątpliwości czy DNA było izolowane z osobników pochodzących ze wszystkich pędów, na których je znaleziono, czy też może z jednej wybranej rośliny każdego gatunku z każdego stanowiska. Niejasne jest też do czego odnosi się pojęcie populacji przy analizach

genetycznych, tj. czy chodzi o populację osobników w jednego pędu, z jednego gatunku żywiciela na stanowisku czy może wreszcie z jednego żywiciela w ogóle?

Brakuje mi też krótkiego uzasadnienia dlaczego wybrano te, a nie inne markery. O ile jest to oczywiste dla podjednostki I oksydazy cytochromowej (COI) czyli tzw. genu barkodingowego, który znajomy jest praktycznie każdemu biologowi, to w przypadku pozostałych genów już niekoniecznie.

Nie mam żadnych zastrzeżeń do analiz genetycznych, których skala jest imponująca. Nie do końca satysfakcjonuje mnie natomiast sposób prezentacji wyników. Oprócz pokazania w tabelach średnich dystansów genetycznych dla linii wyróżnionych na podstawie analizy NJ haplotypów COI i wariantów sekwencji D2 oraz rekonstrukcji drzew filogenetycznych dla pięciu różnych zestawów danych przydałaby się graficzna prezentacja tego, jak poszczególne linie były reprezentowane w odniesieniu do poszczególnych gatunków żywicieli i regionów. Mogłoby to być użyteczne przy interpretacji wyników. Mam wrażenie, że Doktorantka nie wykorzystała w pełni potencjału uzyskanych przez siebie danych.

Zdając sobie sprawę, że prezentowane w rozprawie doktorskiej wyniki badań stanowią kolejny etap prac nad *A. tosichella* zastanawiam się jednak, czy nie było możliwe już teraz postawienie jakiś hipotez odnośnie problemu kompleksu gatunków *A. tosichella* tj. czy są linie, które na pewno zasługują aby wydzielić je jako osobne gatunki. Z drugiej strony można dyskutować czy kiedykolwiek będzie to możliwe biorąc pod uwagę brak różnic morfologicznych, co utrudnia opisy nowych gatunków. Chciałbym się jednak dowiedzieć jakie konkretnie badania zaproponowałaby doktorantka, aby rozwikłać definitywnie ten problem.

Bardzo interesująca i inspirująca do dalszych aktywności jest również część pracy poświęcona przenoszeniu wirusa WSMV przez *Aceria tosichella*. Moje jedyne wątpliwości dotyczą wyboru miejsc i wielkości analizowanych prób przy badaniu prewalencji infekcji w terenie. W przypadku 3 z 6 gatunków liczba badanych pędów wynosiła zaledwie od 1 do 6. Nie wiem jaki sens ma pisanie, że stwierdzono 100% infekcji w przypadku gdy testowano pojedynczy pęd danego gatunku.

Usterki edycyjne i stylistyczne są w rozprawie relatywnie nieliczne. Pracę przyjemniej by się czytało, gdyby skrócić niektóre akapity, szczególnie te liczące stronę i więcej, a także zmniejszyć odstępy między wersami (obecnie są podwójne). Być może jednak ta uwaga jest niestosowna jeśli np. taki sposób formatowania pracy został narzucony wewnętrznymi zaleceniami. Przeszkadza mi nieco, że w tekście stosowane są głównie nazwy polskie, a w tabelach łacińskie lub ich skróty. Zdarza się, że w tytułach tabel pojawiają się nazwy polskie, a w samej tabeli łacińskiej (np. Tabela 10). Dla osoby nie będącej botanikiem może być to trochę niewygodne.

Moje ostatnie zastrzeżenia dotyczą samego tytułu, w którym brakuje mi angielskiego skrótu *Aceria tosichella* tj. WCM, powszechnie stosowanego w pracy i pojawiającego się w niej znacznie częściej niż sama *Aceria tosichella*. Stanowi to również niekonsekwencję biorąc pod uwagę obecność angielskiego skrótu wirusa mozaiki smugowatej pszenicy (WSMV). Tytuł

uzupełniłbym również o nazwy wyższych taksonów (Acari, Eriophyoidea) lub chociaż o słowo „roztoczy” przed nazwą gatunkową. Ułatwiło by orientację osobom, którym nazwa *Aceria tosichella* nic nie mówi. Wreszcie na stronie, na której znalazł się abstrakt w języku angielskim wskazane byłoby też zamieszczenie tytułu rozprawy w tym języku.

Wniosek końcowy

Powyższe uwagi, z których część ma zapewne charakter subiektywny (mam na myśli sposób prezentacji danych), nie wpływają znacząco na moją ogólnie wysoką ocenę przedłożonej do recenzji pracy. Podsumowując, nie mam żadnych wątpliwości, iż rozprawa doktorska mgr Wiktorii Szydło pt. „Zmienność genetyczna, specyficzność żywicielska i zdolność do przenoszenia wirusa mozaiki smugowatej pszenicy (WSMV) w obrębie kompleksu gatunków *Aceria tosichella*” spełnia wszelkie wymogi stawiana pracom doktorskim przez obowiązujące w Polsce prawo dotyczące stopni i tytułów naukowych (Artykuł 13 “Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki”; Dz. U. z 2003 r. nr 65, poz. 595; ze zm. w Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455”). W związku z tym wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Wiktorii Szydło do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Białystok, 29 września 2016 r.

