



**Prof. dr hab. Jarosław Buszko**  
**Uniwersytet Mikołaja Kopernika**  
**Katedra Ekologii i Biogeografii**  
**ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń**  
**tel. (056) 611 44 69**  
**e-mail: buszko@umk.pl**

## Recenzja

**rozprawy doktorskiej mgra Pawła Domagały p.t. „Status palearktycznych podgatunków pазia królowej *Papilio machaon* L. (Lepidoptera: Papilionidae) w oparciu o analizę sekwencji wybranych podjednostek mitochondrialnego i jądrowego DNA oraz cech morfologicznych”.**

### **Wstęp.**

Paź królowej (*Papilio machaon* L.) jest jednym z najbardziej znanych motyli o bardzo szerokim zasięgu geograficznym obejmującym większość obszarów strefy umiarkowanej półkuli północnej. Od czasu opisanego gatunku w 1758 roku przez Linneusza poznano jego rozsielenie, preferencje siedliskowe, bionomię oraz zmienność indywidualną i populacyjną. Zmienność ta była powodem wyróżnienia prawie 100 taksonów niższej rangi, które nie były precyzyjnie zdefiniowane i odnosiły się do podgatunków, odmian oraz form barwnych. Brak jednoznacznych kryteriów wyróżniania podgatunków, zwłaszcza w okresie do połowy XX wieku powodowało pewną dowolność w rozumieniu pojęć – podgatunku, odmiany, formy i aberracji. Współczesne koncepcje podgatunku uwzględniające aspekty rozsiedlenia (alopatyczność), a także cechy morfologiczne, genetyczne, populacyjne oraz uwarunkowania ewolucyjne stwarzają możliwości oceny stanu politypowości pазia królowej. Dlatego uważam, że Doktorant znakomicie wykorzystał szansę przeprowadzenia badań mających na celu uporządkowanie taksonomii na poziomie podgatunków występujących w Palearktyce. Badania te będą również bardzo przydatne dla przyszłych analiz filogeograficznych.

### **Omówienie formalnej i redakcyjnej strony pracy.**

Recenzowana rozprawa przygotowana jest w tradycyjnej formie manuskryptu. Liczy ona 207 stron, z czego 73 strony (7-80) zawierają tekst opisowy, a pozostałe załączniki i ilustracje. Praca posiada obszerną część wstępną. Inicjowana jest ona wprowadzeniem dotyczącym problemów związanych z systematyką i nazewnictwem taksonów niższych kategorii w obrębie omawianego gatunku. Przedstawiona została następnie koncepcja podgatunku, która stanowi motyw przewodni rozprawy. Autor przedstawił klasyfikację rodziny Papilionidae oraz klasyfikację wewnątrz plamienia Papilionini i rodzaju *Papilio* L. w ujęciu różnych autorów. W kolejnej części zestawiono historię badań nad pазiem królowej w oparciu o cechy morfologiczne i molekularne. Zamieszczony został opis bionomii gatunku i jego preferencje

pokarmowe względem roślin żywicielskich gąsienic. Załączona została także charakterystyka postaci dorosłej ze szczególnym uwzględnieniem cech skrzydeł, takich jak użytkowanie, kolorystyka oraz układ elementów rysunku skrzydeł. Rozdział wstępny kończy opis zasięgu geograficznego gatunku. Rozdział drugi określa cele badań, które obejmowały analizę cech morfologicznych, przeprowadzenie sekwencji DNA, dokonanie analizy haplotypów osobników z Palearktyki oraz z populacji występujących w Polsce, ocenę zasadności wyróżniania podgatunków tylko o cechy morfologiczne skrzydeł i wreszcie zaproponowanie ewentualnych zmian taksonomicznych w obrębie gatunku. Hipoteza badawcza (rozdział 3) zakłada – które z dotychczas wyróżnianych podgatunków pazia królowej w świetle cech morfologicznych i molekularnych mogą zachować swój status, a które powinny zostać zsynonimizowane.

Materiał badawczy stanowiło 90 okazów imagines pochodzących z 62 stanowisk, które rozproszone były praktycznie na całym palearktycznym obszarze występowania gatunku. W zależności od tego, czy okazy zostały pozyskane w terenie, czy pochodziły ze zbiorów muzealnych stosowano odpowiednie metody przygotowania materiałów do analiz. Do analiz morfometrycznych użyto 24 cech rysunku na skrzydłach, na podstawie których przygotowano matrycę cech. Metody sekwencjonowania DNA przeprowadzono według standardowych protokołów. Do dalszych analiz sekwencji wykorzystano programy komputerowe MEGA 7.0 oraz DNASp v.6. Jako grupy zewnętrzne przy analizach sekwencji poszczególnych podjednostek wykorzystane zostały sekwencje pokrewnych gatunków paziów uzyskane z GenBanku. Analizy cech morfologicznych przeprowadzono w programie TNT 1.5. Dla badanych sekwencji czterech podjednostek DNA wykonano analizę haplotypów oraz skonstruowano drzewa filogenetyczne. Wynikiem analiz cech morfologicznych było wygenerowanie pięciu różnych kladogramów oraz kladogram konsensusowy. Uzyskane wyniki zostały wyczerpująco omówione.

Dyskusja jest jedną z ważniejszych części rozprawy. Autor omówił w niej problem zasadności wyróżniania europejskich podgatunków *Papilio machaon*, a także status podgatunków z Maroka, Japonii, azjatyckiej części Rosji, Azji Centralnej i Chin. Część tekstową zamykają wnioski oraz przegląd pięciu podgatunków pazia królowej, których wyróżnienie Autor uznał za zasadne. Spis literatury obejmuje 116 pozycji ściśle wiążących się z treścią pracy.

Znaczną część pracy stanowią załączniki tabelaryczne zawierające wykaz stanowisk matrycę cech morfologicznych, zmienność cech morfologicznych oraz rozkład haplotypów. Załączniki graficzne obejmują drzewa filogenetyczne oraz kladogramy. Zilustrowane zostały na kolorowych fotografiach skrzydła wszystkich badanych osobników. Załączono również mapy miejsc pochodzenia badanych osobników oraz geograficznego rozmieszczenia najczęściej występujących haplotypów. Załączone zostały także analizowane sekwencje dla wszystkich badanych podjednostek i niemal wszystkich osobników. Znalazły się również w pracy zestawienia wartości dystansu molekularnego dla poszczególnych podjednostek.

Pod względem formalnym praca jest skonstruowana jest wręcz modelowo i nie mam pod tym względem żadnych zastrzeżeń. Imponujący jest zakres danych zawartych w załącznikach. Także pod względem redakcyjnym pracy nie można nic zarzucić. Napisana została komunikatywnym językiem, bardzo precyzyjnie i zwięźle.

### **Wartość naukowa rozprawy**

W ostatnich latach coraz częściej w badaniach taksonomicznych stosuje się metody morfologiczne oraz molekularne konfrontując wyniki uzyskane z obu źródeł. Doktorant doskonale włączył się w ten nurt, dzięki czemu udało mu się uzyskać interesujące wyniki przy wykorzystaniu jako modelu szeroko rozsiadłego i pospolitego gatunku motyla. Już stwierdzenie faktu, że zmienność cech rysunku na skrzydłach motyli nie koreluje ze zmiennością sekwencji DNA jest przesłanką do wnioskowania, że na podstawie wyłącznie cech morfologicznych nie jest możliwe wyznaczenie podgatunków. Tym bardziej, że na charakter ubarwienia i wykształcenia rysunku na skrzydłach wpływają lokalne warunki klimatyczne oraz rodzaj rośliny żywicielskiej. Na podstawie badań Autor stwierdził, że wszystkie dotychczas opisane z Europy podgatunki pazia królowej należą do podgatunku nominatywnego, i wobec tego wszystkie inne nazwy zastosowane do europejskich taksonów powinny być zsynonimizowane. Natomiast peryferyjne populacje z Maroka, Kamczatki oraz górskich rejonów Chin, ze względu na odrębność genetyczną powinny mieć status odrębnych podgatunków. W konkluzji Autor uważa, że w obrębie Palearktyki można wyróżnić jedynie pięć podgatunków. Wynik ten w znacznym stopniu upraszcza strukturę taksonomiczną gatunku obarczoną wcześniej dużą liczbą taksonów niższych kategorii opisanych jedynie na podstawie cech morfologicznych. Moim zdaniem jest to duże osiągnięcie naukowe i z pewnością, przygotowane w odpowiedniej formie, może być opublikowane w liczącym się czasopiśmie naukowym.

### **Ocena pracy.**

Zaletą rozprawy jest, przede wszystkim, jej wartość merytoryczna. Godne podkreślenia jest jasne sformułowanie hipotezy badawczej. Uzyskane wyniki stanowią znaczący wkład do wiedzy o zmienności morfologicznej i genetycznej motyli. Zdobycie materiału badawczego z różnych krajów wymagało z pewnością sporych działań organizacyjnych. Dotyczy to także przygotowania i wykonania badań laboratoryjnych. Forma przygotowania manuskryptu wyróżnia się starannym zredagowaniem tekstu, estetycznym sporządzeniem tabel i ilustracji. Prezentacja treści, argumentacja i wnioskowanie także są eleganckie. Piśmiennictwo zawiera zarówno stare dzieła podstawowe, jak i najnowsze artykuły stanowiące odniesienie do dyskusji własnych wyników. Trudno wskazać słabe strony pracy. Pod każdym względem, zarówno merytorycznym, jak i formalnym praca jest przygotowana bardzo dobrze. Dlatego biorąc pod uwagę wszystkie elementy rozprawy doktorskiej mgra Pawła Domagały uważam, że zasługuje ona na bardzo wysoką ocenę.

**Wniosek końcowy.** Na podstawie całościowej oceny rozprawy doktorskiej Pawła Domagały mogę stwierdzić, że Doktorant jest uzdolnionym badaczem, który potrafi dobrze sformułować temat badań, zaplanować i wykonać zadania oraz wykorzystać możliwości techniczne i organizacyjne. W trakcie swoich prac uzyskał oryginalne i wartościowe wyniki, które poszerzają wiedzę o strukturze wewnątrzgatunkowej motyla – pazia królowej.

W związku z powyższym stwierdzam, że wymieniona rozprawa doktorska w pełni spełnia warunki określone w ustawie o tytule naukowym i stopniach naukowych. Zwracam się więc do Rady Wydziału Przyrodniczo-Technicznego Uniwersytetu Opolskiego o dopuszczenie mgra Pawła Domagały do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Mając na uwadze wartość merytoryczną wyników zawartych w rozprawie doktorskiej wnioskuję o jej wyróżnienie w trybie przyjętym na Uniwersytecie Opolskim.

Toruń, 6 września 2019 r.

(Prof. dr hab. Jarosław Buszko)