

Załącznik nr 3
Autoreferat

Załącznik 3

AUTOREFERAT

1. Imię i Nazwisko:

Mirosława Dabert

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

1989 – magister biologii, Wydział Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Kierownik pracy: prof. dr hab. Jacek Augustyniak.

1999 – doktor nauk biologicznych w zakresie biologii, stopień uzyskany na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, na podstawie rozprawy doktorskiej: „Transformacja roślin genem inhibitora proteazowego II z ziemniaka i analiza aktywności inhibitora”. Promotor: prof. dr hab. Jacek Augustyniak, recenzenci: prof. dr hab. Zofia Szweykowska–Kulińska, prof. dr hab. Andrzej Płucienniczak.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

1990-1999 – asystent, Zakład Biochemii Biopolimerów, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu (UAM)

1999-2001 – adiunkt, Zakład Biochemii Biopolimerów, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Biologii UAM

2001-2003 – adiunkt, Zakład Biotechnologii, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Biologii UAM

2003-2004 – adiunkt, kierownik Pracowni Sekwencjonowania DNA, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Biologii UAM

2004 do chwili obecnej – adiunkt, kierownik Wydziałowej Pracowni Techniki Biologii Molekularnej, Wydział Biologii UAM

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:

Markery DNA w badaniach taksonomicznych i ewolucyjnych roztoczy (Arachnida: Actinotrichida, Anactinotrichida)

b) publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

Osiągnięcie naukowe składa się z cyklu 7 prac, których **sumaryczny IF** wg roku publikacji (dla prac z 2013 przyjęto wskaźnik za 2012) wynosi **12,124** (pięcioletni = 13,507), a **liczba punktów MNiSW** (wg roku publikacji) = **162**.

1. Dabert J., **Dabert M.**, Mironov S.V. (2001) Phylogeny of Feather Mite Subfamily Avenzoariinae (Acari: Analgoidea: Avenzoariidae) Inferred from Combined Analyses of Molecular and Morphological Data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20(1): 124-135. *IF* = 3,982; *MNiSW* = 32, *cytowania* = 15.
2. **Dabert M.** (2006) DNA markers in the phylogenetics of the Acari. *Biological Letters*, 43(2): 97–107. *IF* = 0; *MNiSW* = 6.
3. Dabert J., Ehrnsberger R., **Dabert M.** (2008) *Glaucalgés tytonis* sp. n. (Analgoidea: Xolalgidae) from the barn owl *Tyto alba* (Strigiformes: Tytonidae): compiling morphology with DNA barcode data for taxon descriptions in mites (Acari). *Zootaxa* 1719: 41–52. *IF* = 0,740; *MNiSW* = 20, *cytowania* = 29.
4. Martin P., **Dabert M.**, Dabert J. (2010) Molecular evidences for species separation in the water mite *Hygrobates nigromaculatus* Lebert, 1879 (Acari, Hydrachnidia): evolutionary consequences of the loss of larval parasitism. *Aquatic Sciences* 72 (3): 347-360. *IF* = 1,565; *MNiSW* = 32, *cytowania* = 14.
5. **Dabert M.**, Witalinski W., Kazmierski A., Olszanowski Z., Dabert J. (2010) Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): Strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 222–241. *IF* = 3,889; *MNiSW* = 32, *cytowania* 42.
6. Mironov S.V., Dabert J., **Dabert M.** (2012) A new feather mite species of the genus *Proctophyllodes* Robin, 1877 (Astigmata: Proctophyllodidae) from the Long-tailed Tit *Aegithalos caudatus* (Passeriformes: Aegithalidae)—morphological description with DNA barcode data. *Zootaxa* 3253: 54–61. *IF* = 0,974; *MNiSW* = 20, *cytowania* = 6.
7. Niedbala W., **Dabert M.** (2013) Madeira's ptyctimous mites (Acari, Oribatida). *Zootaxa* 3664 (4): 571–585. *IF* = 0,974; *MNiSW* = 20, *cytowania* = 0.

c) OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO/ARTYSTYCZNEGO WW. PRACY/PRAĆ I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA

W siedmiu pracach, które wskazuję, jako osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy, opublikowałam rezultaty moich badań związanych z opracowaniem i wykorzystaniem markerów genetycznych opartych o sekwencje DNA w rozwiązywaniu problemów taksonomicznych i ewolucyjnych bardzo dużej, różnorodnej i ewolucyjnie starej grupy pajęczaków, jaką są roztocze (Arachnida: Actinotrichida, Anactinotrichida).

Przypuszcza się, że roztocze są jedną z najliczniejszych w gatunki grup zwierząt, po owadach i prawdopodobnie nicieniach. Skrajna miniaturyzacja ciała (są to zwierzęta o wielkości od 0,1 do kilkunastu milimetrów) pozwala im wykorzystywać liczne nisze niedostępne dla innych stawonogów. Są pierwotnie lądowymi zwierzętami, z których niektóre wtórnie przeszły do życia w wodach słodkich i słonych. Rostocze, jako jedyna grupa pajęczaków, wykorzystują bardzo szerokie spektrum źródeł pokarmu; spotykane są wśród nich drapieżniki, fitofagi, fungofagi, saprofagi, ekto- i endopasożyty bezkręgowców i kręgowców, włączając człowieka. Wiele taksonów roztoczy ma istotne znaczenie zarówno dla funkcjonowania ekosystemów (zwłaszcza roztocze glebowe), jak i dla gospodarki (szkodniki roślin, pasożyty i wektory chorobotwórcze zwierząt, szkodniki artykułów spożywczych) i medycyny (roztocze alergogenne, pasożyty skóry). Markery DNA w badaniach roztoczy zaczęły być stosowane stosunkowo późno. Trudności w analizie molekularnej tych zwierząt są zarówno natury technologicznej, co wynika z miniaturyzacji ich ciała, jak i analitycznej, co ma związek z tym, iż jest to grupa ewolucyjnie stara, zawierająca linie ewolucyjne silnie różniące się tempem substytucji sekwencji. W toku swoich badań, jako pierwsza w świecie opracowałam kompletną metodykę prac molekularnych niezbędnych do analiz pojedynczych osobników roztoczy.

Prowadzone przeze mnie badania od początku wpisywały się w światowy rozwój akarologii. **Jestem współautorem publikacji prezentującej pierwszą w świecie analizę filogenetyczną opartą na sekwencjach DNA dla roztoczy z kohorty Astigmata** (Dabert J., Dabert M., Mironov S.V. 2001. Phylogeny of feather mite subfamily Avenzoariinae (Acari: Analgoidea: Avenzoariidae) inferred from combined analyses of molecular and morphological data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20(1): 124-135; **poz. 1**). Praca ta miała na celu zrekonstruowanie przebiegu filogenezy podrodziny roztoczy piór (11 rodzajów, około 50 opisanych gatunków) zasiedlających ptaki siewkowe (Charadriiformes). Ze względu na uniformizację cech morfologicznych w ramach Avenzoariinae, wynikającą głównie z konwergencji związanych ze środowiskiem życia (chorągiewka pióra), istotne było wsparcie

analizy danymi molekularnymi. W tym czasie na świecie tego typu badania na roztoczach praktycznie jeszcze nie były prowadzone za wyjątkiem kleszczy (Anactinotrichida: Ixodida) (Black & Piesman 1994) i przedziorków (Actinotrichida: Tetranychidae) (prace M. Navajas, np. Navajas et al. 1994). Dostępny do badań materiał zwierzęcy Avenzoariinae, które należą do stosunkowo małych (<0,5 mm) i silnie zesklebionych mikrostawonogów, był nieliczny i w większości pochodzenia muzealnego, co dodatkowo komplikowało analizę z powodu degradacji DNA. Mimo tych trudności, dokonałam wyboru markera molekularnego do analizy filogenetycznej i opracowałam metodykę pozyskiwania odpowiednich sekwencji z badanych gatunków. W efekcie przeprowadzonych badań **opublikowałam** w GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) **pierwsze dla wiedzy 32 sekwencje genu 16S rRNA dla 12 rodzajów roztoczy piór reprezentowanych przez 26 gatunków**. Analiza filogenetyczna tych sekwencji w połączeniu z danymi morfologicznymi potwierdziła w większości poprzednie koncepcje dotyczące powiązań filogenetycznych w ramach tej podrodziny, za wyjątkiem tego, iż wykazała, że rodzaj *Avenzoaria* jest monofiletyczny. Na podstawie wyników analizy danych molekularnych **wskazałam po raz pierwszy na specjację kryptyczną u Astigmata w ramach dwóch oligoksenicznych gatunków *Avenzoaria calidridis* i *A. totani***; w tym drugim przypadku potwierdziłam to spostrzeżenie późniejszą analizą markerów jądrowego DNA (Dabert M. et al. 2005, zał. 5 p.II.D–4). **Włączenie przeze mnie danych molekularnych do analizy filogenetycznej** pozwoliło nam zrekonstruować drzewo Avenzoariinae, które charakteryzowało się dobrą rozdzielczością również w ramach rodzajów, czego nie dawała analiza wyłącznie cech morfologicznych. **Umożliwiło nam to przeprowadzenie pierwszej w świecie formalnej analizy kofilogenetycznej dla roztoczy** (Actinotrichida, Anactinotrichida). Na jej podstawie stwierdziliśmy, że zasadniczym zjawiskiem kofilogenetycznym decydującym o ewolucji tej grupy roztoczy jest kospecjacja z żywicielem.

W celu przybliżenia akarologom i studentom zagadnień związanych z analizą DNA u roztoczy, napisałam pracę przeglądową „DNA markers in the phylogenetics of the Acari” (Dabert M., 2006, *Biological Letters*, 43(2): 97–107; **poz. 2**), w której **omówiłam główne typy sekwencji DNA stosowane jako markery filogenetyczne** u zwierząt wraz z **informacją o ich sile dyskryminacji na różnych poziomach taksonomicznych**. W pracy tej przedstawiłam też szczegółowy przegląd markerów DNA stosowanych do 2005 r. w badaniach akarologicznych, uzupełniony informacjami o opublikowanych do tego czasu w bazie GenBank sekwencjach DNA z roztoczy i kleszczy.

Miniaturyzacja ciała roztoczy generuje z jednej strony trudności z uzyskaniem odpowiedniej ilości genomowego DNA do analiz, a z drugiej utrudnia zachowanie materiału dowodowego (*voucher*), który umożliwia oznaczenie gatunku za pomocą klasycznych metod morfologicznych. Badacze radzą sobie z tym problemem dwojako: w przypadku większych

roztoczy (>5 mm, np. Holothyrída, Ixodida) pobierają do ekstrakcji DNA tylko część osobnika, resztę zachowując jako *voucher*, lub w przypadku mniejszych roztoczy stosują tzw. system podwójny, w którym próba składająca się z wielu osobników jest dzielona na część do ekstrakcji DNA i część do oznaczania morfologicznego (np. Klompen et al. 2007). Ja natomiast, w toku swoich badań **opracowałam metodę ekstrakcji całkowitego genomowego DNA z roztoczy bez niszczenia ich kutykularnego egzoszkieletu, który następnie może być wykorzystany do wykonania preparatu mikroskopowego**; metoda ta nadaje się do izolacji DNA praktycznie z wszystkich roztoczy poza niektórymi Trombidiformes (np. Rhagidiidae). Takie pozyskiwanie DNA bez niszczenia materiału typowego umożliwia przeprowadzenie analizy sekwencji przed wykonaniem analizy morfologicznej. Wykorzystując tę metodykę, **przeprowadziłam analizę zmienności markerowych sekwencji DNA pomiędzy populacjami roztoczy z rodzaju *Glaucalgés* zasiedlających sowę uszatą (*Asio otus*) i płomykówkę zwyczajną (*Tyto alba*) i wykazałam stopień zróżnicowania genetycznego odpowiadający osobnym gatunkom**. Po tej analizie, na materiale, z którego wcześniej wyekstrahowałam DNA, zaproponowałam przeprowadzenie badań morfologicznych. Badania te wykazały istnienie nieznacznych biometrycznych różnic morfologicznych w wielkości ciała, długości szczecin, kształcie epimerów, potwierdzających występowanie pary gatunków kryptycznych: *G. attenuatus* (Buchholz, 1869) na *Asio otus* i nowego gatunku *G. tytonis* na *Tyto alba*. Rezultaty tych badań opublikowałam w pracy, w której również **zaprezentowałam po raz pierwszy dla roztoczy należących do kohorty Astigmata startery do amplifikacji sekwencji typu DNA–barcode** (Dabert J., Ehrnsberger R., Dabert M. (2008) *Glaucalgés tytonis* sp. n. (Analgoidea: Xolalgidae) from the barn owl *Tyto alba* (Strigiformes: Tytonidae): compiling morphology with DNA barcode data for taxon descriptions in mites (Acari). Zootaxa 1719: 41–52; **poz. 3**). Sekwencja DNA–barcode, inaczej nazywana kodem kreskowym DNA, to fragment o długości około 650 nukleotydów z końca 5' mitochondrialnego genu podjednostki I oksydazy cytochromu c (COI), zaproponowany do wyróżniania gatunków u Metazoa. Astigmata charakteryzują się specyficzną mutacją w miejscu hybrydyzacji startera 5', która uniemożliwia stosowanie u nich tzw. starterów uniwersalnych wykorzystywanych w większości badań tego typu. Startery do amplifikacji tego rejonu u Astigmata zaprojektowałam w wyniku analizy sekwencji aminokwasowych COI, wydedukowanych na podstawie uzyskanych przeze mnie sekwencji długich fragmentów mtDNA z *Dermatophagoides farrinae* i *Histiostoma ferroniarium*. Wcześniej w badaniach filogenetycznych roztoczy stosowane były sekwencje innego, środkowego rejonu genu COI (np. Anderson & Trueman 2000, Navajas & Boursot 2003). W tym czasie nie były jeszcze znane sekwencje kompletnych genomów mtDNA z Actinotrichida.

Od 2008 r., czyli od czasu opublikowania pracy prezentującej opis gatunku roztocza z zachowaniem preparatu mikroskopowego i DNA typowego, zmodyfikowałam metodę ekstrakcji i amplifikacji DNA tak, że stała się ona o wiele bardziej wydajna, przez co może być stosowana do pojedynczych osobników roztoczy o wielkości mniejszej niż 0,2 mm. W swoich badaniach **włączyłam po raz pierwszy dla wykrywania gatunków kryptycznych u roztoczy**, obok pochodzącego z genomu mitochondrialnego markera COI, również **marker DNA jądrowego, jakim jest fragment z końca 5' genu 28S rRNA, zawierający m.in. hiperzmienny rejon D2** zaproponowany przez Sonnenberga et al. (2007) jako uzupełniający *DNA–barcode* dla Metazoa. Włączenie tego markera jest istotne ze względu na zjawisko introgresji mitochondrialnego DNA obserwowane również u roztoczy (własne obserwacje). Zaprojektowane przeze mnie startery do amplifikacji rejonu D2 genu 28S rRNA, jak również zmodyfikowaną metodykę pozyskiwania sekwencji typu *DNA–barcode* metodą nieinwazyjną z pojedynczego osobnika opublikowałam w pracy opisującej nowy gatunek roztocza piór (Mironov S.V., Dabert J., Dabert M. 2012. A new feather mite species of the genus *Proctophyllodes* Robin, 1877 (Astigmata: Proctophyllodidae) from the Long-tailed Tit *Aegithalos caudatus* (Passeriformes: Aegithalidae)—morphological description with DNA barcode data. *Zootaxa* 3253: 54–61; **poz. 6**). Opracowana przeze mnie metodyka molekularna pozwoliła na pozyskanie sekwencji DNA z pojedynczych, silnie zesklekotyzowanych osobników, mimo tego, że przez kilka lat były one konserwowane w alkoholu etylowym, który powoduje dodatkowe utwardzenie kutykuli. Obecnie metoda ta jest szeroko stosowana w badaniach molekularnych różnych grup roztoczy, a w 2011 doktorantka z UCM José Antonio Novai w Madrycie odbyła staż w moim laboratorium, aby nauczyć się jej stosowania.

Opracowaną metodykę wykorzystuję do rozwiązywania różnych problemów taksonomicznych na poziomie gatunku. Przykładowo, **dostarczyłam dowodów molekularnych na brak przepływu genów pomiędzy populacjami wodopójek *Hygrobates nigromaculatus* (Trombidiformes, Hydrachnida) zasiedlającymi różne słodkowodne habitaty** (Martin P., Dabert M., Dabert J. 2010. Molecular evidences for species separation in the water mite *Hygrobates nigromaculatus* Lebert, 1879 (Acari, Hydrachnidia): evolutionary consequences of the loss of larval parasitism. *Aquatic Sciences* 72 (3): 347-360; **poz. 4**). W pracy tej łącznie przebadalam 17 różnych populacji wodopójek, z czego 11 to populacje *H. nigromaculatus* zasiedlające jeziora lub strumienie, a pozostałe należały do 4 gatunków stanowiących grupy zewnętrzne. Już wcześniej obserwowano pewne różnice w strategiach cyklu życiowego pomiędzy *H. nigromaculatus* zasiedlającymi wody płynące (występują u nich larwy pasożytnicze) i wody stojące (brak pasożytnictwa larw), jednak analiza morfologiczna nie pozwalała na jednoznaczne rozdzielenie gatunków ze względu na nieznaczne różnice w budowie i istnienie pośrednich form morfologicznych.

Przeprowadzona przeze mnie analiza sekwencji DNA jądrowego i mitochondrialnego dostarczyła jednoznacznych dowodów na wsparcie hipotezy o istnieniu dwóch gatunków kryptycznych – *H. nigromaculatus* zasiedlającego wody stojące i *H. setosus* żyjącego w wodach płynących. Co więcej, na podstawie analizy sekwencji DNA zaobserwowałam różnice w zmienności genetycznej w ramach wykrytych gatunków, zależne prawdopodobnie od ich różnej strategii dyspersyjnej (larwy wolnożyjące u *H. nigromaculatus* i pasożytnicze u *H. setosus*). Badania te rozwijam we współpracy z dr. P. Martinem z Niemiec; przykładowo, w celu precyzyjnego wyznaczenia stopnia przepływu genów pomiędzy poszczególnymi populacjami zasiedlającymi różne rejony geograficzne opracowałam markery mikrosatelitarne dla obu gatunków (wyniki uzyskane w trakcie realizacji kierowanej przeze mnie pracy magisterskiej).

Innym przykładem takich badań jest praca, w której **rozwiązałam status gatunkowy dwóch par bardzo podobnych morfologicznie gatunków z rodziny Steganacaridae (Actinotrichida, Oribatida) oraz określiłam ich pokrewieństwo filogenetyczne** (Niedbala W., Dabert M. 2013. Madeira's ptyctimous mites (Acari, Oribatida). *Zootaxa* 3664 (4): 571–585; **poz. 7**). W pracy analizowałam status gatunkowy dwóch par gatunków o silnie zbliżonej morfologii: jedna para to występujący w Palearktyce *Steganacarus (S.) applicatus* i występujący na Maderze jego odpowiednik *S. (S.) crassisetosus*, a druga to palearktyczny *S. (S.) spinosus* i, również występujący na Maderze, *S. (S.) similis*. Za pomocą analizy *DNA–barcoding* dla dwóch markerów DNA **potwierdziłam mocny status gatunkowy każdego z analizowanych taksonów**. Natomiast dzięki analizie filogenetycznej, do której włączyłam dodatkowe gatunki Steganacaridae występujące na wyspach Kanaryjskich oraz w Palearktyce **wykazałam silną odrębność genetyczną palearktycznego *S. (S.) spinosus***, który występował bazalnie w stosunku do pozostałych analizowanych Steganacaridae, a w niektórych przypadkach nawet tworzył politomię z grupą zewnętrzną, jaką był *Phthiracarus longulus* (Phthiracaridae). W rezultatach tej analizy **nie znalazłam wsparcia hipotezy o bliskim pokrewieństwie** drugiej pary morfologicznej, a mianowicie ***S. (S.) applicatus* i *S. (S.) crassisetosus***. Topologia uzyskanych drzew wskazywała na bliższe pokrewieństwo gatunków wyspowych, w stosunku do których gatunki europejskie tworzyły bazalne klady. Kompleksowe rozwiązanie powiązań filogenetycznych Steganacaridae wymaga ujęcia w analizie większej liczby gatunków, zwłaszcza europejskich i północnoafrykańskich. Jest to duże wyzwanie, ponieważ w ramach Steganacaridae najprawdopodobniej mamy do czynienia z wysokim poziomem specjacji kryptycznych, o czym może świadczyć choćby pobieżna analiza opublikowanych w bazie GenBank sekwencji COI innego gatunku z tego rodzaju – *S. magnus*. Uzyskane przeze mnie rezultaty badań mogą stanowić punkt wyjścia do szukania rozwiązań filogenetycznych w tej zróżnicowanej genetycznie grupie roztoczy.

Równoległe z opracowaniem markerów DNA pozwalających analizować zmienność genetyczną na poziomie gatunku, **zajmuję się pozyskiwaniem i analizą markerów DNA umożliwiających rozwiązywanie głębokich problemów filogenetycznych.** Opracowałam metodykę amplifikacji i sekwencjonowania kompletnych genów rRNA małej podjednostki rybosomu, które w międzyczasie stały się podstawowym markerem filogenetycznym dla wszystkich organizmów. **Uzyskane przeze mnie sekwencje kompletnych genów 18S rRNA, uzupełnione informacją pochodzącą z sekwencji aminokwasowych COI, wykorzystałam w analizie filogenetycznej głównych linii ewolucyjnych roztoczy** (Dabert M., Witaliński W., Kaźmierski A., Olszanowski Z., Dabert J. 2010. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): Strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 222–241; **poz. 5**). Praca ta powstała na podstawie analizy filogenetycznej dwóch zestawów danych. Pierwszy zestaw stanowiło 130 sekwencji genów 18S rRNA, z czego 64 były to wygenerowane przeze mnie, nowe dla wiedzy, kompletne geny kluczowych taksonów Actinotrichida, ze szczególnym uwzględnieniem Astigmata i Oribatida, a także Mesostigmata (Anactinotrichida) oraz grup zewnętrznych (Opilliones). Druga analiza filogenetyczna była przeprowadzona na 72 sekwencjach COI, z czego wszystkie dla Actinotrichida (71) były wygenerowane przeze mnie i nowe dla wiedzy. Uzyskane na ich podstawie rezultaty pozwoliły znaleźć odpowiedź na kilka fundamentalnych pytań stawianych w akarologii. Roztocze (Acari) tradycyjnie są traktowane jako grupa monofiletyczna, do której zaliczane są dwie siostrzane linie ewolucyjne: Actinotrichida (=Acariformes), zawierające Trombidiformes, Endeostigmata, Astigmata i Oribatida oraz Anactinotrichida (=Parasitiformes), do których zaliczane są Opilioacarida, Holothyrida, Ixodida i Mesostigmata. Wbrew tej powszechnie przyjmowanej koncepcji, istnieją hipotezy o difiletycznym pochodzeniu roztoczy, czyli zakładające, że Actinotrichida i Anactinotrichida nie miały bezpośredniego wspólnego przodka. Hipoteza difiletyczna znalazła częściowe wsparcie w wynikach badań histologicznych (przegląd w Dunlop & Alberti 2008), jednak nie potwierdziły jej wyniki analizy filogenetycznej Anactinotrichida, gdzie Actinotrichida stanowiły jedną z grup zewnętrznych (Klompen et al. 2007). Podobnie nierozstrzygnięty był spór dotyczący pozycji filogenetycznej Astigmata w ramach Actinotrichida. Wyniki filogenezy molekularnej poświęconej temu problemowi (Domes et al. 2007) nie wsparły żadnej z dwóch najbardziej prawdopodobnych, choć przeciwstawnych hipotez: ani pierwszej, zakładającej, że Astigmata i Oribatida są monofiletycznymi grupami siostrzanymi, ani drugiej, że Oribatida są taksonem parafiletycznym, w ramach którego powstały Astigmata. **Analiza filogenetyczna, której jestem współautorem,** przyniosła kilka znaczących rezultatów. Po pierwsze, **wsparła hipotezę o difiletycznym pochodzeniu roztoczy, wskazując z dużym wsparciem na solfugi (Solifugae), jako grupę siostrzaną Actinotrichida i sugerując zaleszczotki**

(Pseudoscorpionida), jako grupę siostrzaną Anactinotrichida. Rezultat wskazujący na solfugi, jako grupę siostrzaną Actinotrichida był zgodny z podobnymi obserwacjami opartymi na analizie systemów rozrodczych i budowie plemników u pajęczaków (prace prof. G. Albertiego), a także zyskał dodatkowe potwierdzenie w wynikach opublikowanej później filogenezy molekularnej Actinotrichida, opartej na nieco innym zakresie danych (Pepato et al. 2010). Drugi rezultat mający bardzo istotne znaczenie dla systematyki roztoczy, to znalezienie wsparcia dla hipotezy dotyczącej pochodzenia Astigmata: **przeprowadzona analiza wskazała, że Astigmata powstały w ramach Oribatida.** Rezultat ten znalazł potwierdzenie w dwóch niezależnie przeprowadzonych analizach: jednej dla markera jądrowego (18S rRNA), a drugiej dla mtDNA (sekwencje aminokwasowe COI). Odmienne rezultaty naszej analizy filogenetycznej od tych, jakie uzyskiwano w poprzednich pracach bazujących na danych molekularnych, wynikały między innymi z innego podejścia metodologicznego: wzięliśmy pod uwagę duże różnice średniego tempa substytucji sekwencji w ramach poszczególnych linii ewolucyjnych roztoczy, a zwłaszcza między szybko ewoluującymi Astigmata i bardzo wolno ewoluującymi Oribatida. W zaprojektowanym przeze mnie doświadczeniu wykazaliśmy, że różnice w tempie ewolucji sekwencji pogłębiają się, gdy z przyrównania sekwencji zostają usunięte trudne do dopasowania rejony zmienne genu 18S rRNA, a tak postępowano podczas przygotowywania matrycy danych w dotychczasowych badaniach (Domes et al. 2007, Klompen et al. 2007). Duże różnice w tempie ewolucji sekwencji prowadzą do artefaktu analizy filogenetycznej, polegającego na wzajemnym przyciąganiu długich gałęzi (*Long-Branch Attraction artifact*), co w tym szczególnym przypadku prowadziło do siostrzanego łączenia Astigmata z również szybko ewoluującymi Trombidiformes. **Zastosowane przeze mnie podejście, polegające na pozostawieniu w przyrównaniu sekwencji rejonów zmiennych, które dają się dopasować w bliskich taksonach, zmniejszyło efekt przyciągania długich gałęzi, dostarczając wystarczającej informacji do wiarygodnego odtworzenia powiązań filogenetycznych.** Obecnie pracuję nad uzyskaniem danych w celu potwierdzenia difiletizmu roztoczy poprzez znalezienie grupy siostrzanej dla Anactinotrichida. Dużym problemem w realizacji tego przedsięwzięcia jest uzyskanie materiału biologicznego do ekstrakcji DNA z wszystkich grup pajęczaków; dotyczy to głównie grup szczególnie rzadko występujących, jak Amblypygi, Palpigradi czy Ricinulei. W tym względzie duże nadzieje wiążę z technikami sekwencjonowania nowej generacji, które umożliwiają wykorzystanie do badań podegradowanego DNA z materiałów muzealnych.

Podsumowując mój dorobek, który wskazuję jako osiągnięcie habilitacyjne, chcę podkreślić, że opracowana przeze mnie metodyka molekularna była jedną z pierwszych lub pierwszą w świecie, która umożliwiła pozyskiwanie homologicznych sekwencji DNA do analiz filogenetycznych głównych grup roztoczy. Opracowane przeze mnie metody nieinwazyjnej

ekstrakcji DNA i wydajnego pozyskiwania sekwencji markerowych sprawiły, że polscy akarolodzy znajdują się w ścisłej czołówce światowej grup badawczych zajmujących się taksonomią i filogenetyką molekularną roztoczy. Rezultaty moich badań umożliwiły zrekonstruowanie przebiegu filogenezy roztoczy na różnych poziomach taksonomicznych: rodzaju (*Steganacarus*), podrodziny (*Avenzoariinae*) i całego nadrzędu Acariformes. Jako jedna z pierwszych w świecie włączyłam się w nurt badań związanych z wykorzystaniem technologii *DNA–barcoding* do rozwiązywania problemów taksonomicznych na poziomie gatunku u roztoczy. W skład mojego osiągnięcia habilitacyjnego włączyłam przykładowe prace z tego nurtu, których rezultatami były opisy nowych gatunków z informacją o ich sekwencjach *DNA–barcode* z zachowaniem okazów typowych i pochodzącego z nich DNA oraz odkrycie gatunków kryptycznych. Większość z przedstawionych przeze mnie prac, to publikacje wieloautorskie, ponieważ dotyczą rozwiązywania różnego typu problemów badawczych identyfikowanych przez specjalistów w danej grupie taksonomicznej, jednak **w każdej z tych prac jestem jedynym autorem odpowiedzialnym za koncepcję badań molekularnych, w tym opracowanie i dobór odpowiednich markerów DNA, ich zastosowanie, analizę i interpretację rezultatów molekularnych.**

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH

Główny nurt mojej pracy naukowej do doktoratu dotyczył opracowania metod transformacji roślin systemem *Agrobacterium* w oparciu o kultury *in vitro*. Drugim obszarem moich zainteresowań było wykorzystanie markerów molekularnych, przede wszystkim sekwencji DNA, w badaniach filogenetycznych i taksonomicznych. Jeszcze przed doktoratem rozpoczęłam analizy markerów DNA roztoczy i opublikowałam przykład zastosowania sekwencji genu 16S rRNA jako markera filogenetycznego dla roztoczy piór (Dabert M. 1997, praca wymieniona w załączniku 5, punkt II.D, pozycja nr 8). Uzyskane przeze mnie i **przedstawione w tej pracy sekwencje były pierwszymi opublikowanymi markerami filogenetycznymi dla roztoczy z kohorty Astigmata.** W drugiej pracy (Dabert M. et al. 1999, zał. 5 p.II.D–7) **po raz pierwszy zastosowałam markery DNA do wykazania odrębności gatunkowej obrzeżka *Argas polonicus* (Anactinotrichida: Argasidae),** pasożyta gołębi, który może również infekować człowieka, stwarzając poważne zagrożenie epidemiologiczne.

Krótko po doktoracie w 2001 r. odbyłam kilkumiesięczny staż naukowy na Uniwersytecie Kalifornijskim, gdzie zapoznałam się z metodami przygotowywania i automatycznego sekwencjonowania bibliotek DNA. W 2003 r. zorganizowałam Pracownię Sekwencjonowania DNA w Instytucie Biologii Molekularnej i Biotechnologii WB UAM, a rok później zaproponowano mi zorganizowanie ogólnowydziałowej pracowni przystosowanej do

analizy markerów molekularnych. Wydziałową Pracownię Techniki Biologii Molekularnej stworzyłam od podstaw i pełnię obowiązki jej kierownika od 2004 r. (dorobek organizacyjny związany z kierowaniem WPTBM przedstawiłam w zał. 5 p.III.Q). Konsekwencją przejęcia obowiązków kierowania ogólnowydziałową pracownią działającą na rzecz wszystkich jednostek wydziału i innych placówek naukowych, była rezygnacja z głównych zainteresowań naukowych skupionych wokół biotechnologii. Zdecydowana większość mojego dorobku naukowego dotyczy mojej działalności po zmianie tematyki zainteresowań badawczych. Ogółem, łącznie z pracami włączonymi do osiągnięcia habilitacyjnego, na mój dorobek składa się 37 publikacji, w tym: 28 oryginalnych artykułów opublikowanych w czasopiśmie JCR (27 po uzyskaniu stopnia doktora), 5 oryginalnych artykułów w innych czasopiśmie recenzowanych (3 po uzyskaniu stopnia doktora), 3 prace przeglądowe oraz 1 rozdział w podręczniku (wszystkie po uzyskaniu stopnia doktora). Niemal wszystkie **moje publikacje wydane po uzyskaniu stopnia doktora dotyczą opracowania i wykorzystania markerów DNA i metod ich analizy w różnych dziedzinach nauk przyrodniczych.**

Najważniejszy nurt moich badań po uzyskaniu stopnia doktora skupia się wokół **zastosowania markerów DNA w akarologii.** Poza pracami wskazanymi przeze mnie jako osiągnięcie habilitacyjne, mam w swoim dorobku prace będące owocem inicjowania i podejmowania przeze mnie współpracy z wieloma akarologami z Polski i zagranicy, z czego kilka znaczących projektów jest w toku. Przykładowo, rezultaty moich badań przyczyniły się do **wykrycia andropolimorfizmu w rodzaju *Aclerogamasus* (Anactinotrichida, Parasitidae)**, co skutkowało synonimizacją gatunku opisanego na podstawie polimorficznych samców w rzeczywistości występujących u *Aclerogamasus similis* Willmann, 1953 (Dabert M. et al. 2011, zał. 5 p.II.A–8) oraz **wykrycia specjacji kryptycznej u szpecieli (Skoracka A. & Dabert M. 2010, zał. 5 p.II.A–16; Skoracka et al. 2012, zał. 5 p.II.A–5) i roztoczy piór** (Dabert M. et al. 2005, zał. 5 p.II.D–4; Badek et al. 2008, zał. 5 p.II.A–19; Dabert J. et al. 2008, zał. 5 p.II.A–20; Dabert J. et al. 2013, zał. 5 p.II.A–3).

Realizuję wspólne projekty również z akarologami z zagranicy (zał. 5 p.III.F). Współpracuję m.in. z prof. H. Proctor i prof. H. Klompenem **w zakresie rekonstrukcji filogenezy wodopójek** (Actinotrichida, Parasitengona, Hydrachnida). Wstępne rezultaty naszych badań przedstawiliśmy na XII Międzynarodowym Kongresie Akarologicznym (zał. 5 p.III.B–12), a obecnie przygotowujemy do druku końcową publikację dotyczącą tego zagadnienia. Kontynuuję współpracę z dr. P. Martinem w zakresie **analizy zmienności genetycznej w ramach gatunków siostrzanych *Hygrobatas setosus* i *H. nigromaculatus*.** Od lat 90-tych ściśle współpracuję z prof. S. V. Mironovem, a obecnie kieruję realizacją części molekularnej projektu dotyczącego **specjacji kryptycznej i rekonstrukcji powiązań filogenetycznych w rodzaju *Analges*** (Actinotrichida:

Analgoidea). Niedawno rozpoczęłam wspólny projekt z dr. S. Wirth'em, dotyczący **specjacji kryptycznej u *Histiostoma*** (Actinotrichida: Histiostomatoidea). We współpracy m.in. z naukowcami z University Centre in Svalbard, Norwegia, **wykazałam, że agresywne zachowania międzygatunkowe wydrzyków** (Aves: Charadriiformes, Stercorariidae) **mogą skutkować wspólną fauną ektopasożytów** (Dabert M. et al., Brief physical contacts between different bird species can lead to panmixia in species-specific ectoparasites: A case of arctic and long-tailed skuas and their feather mites, w przygotowaniu).

Jestem autorem ponad 670 sekwencji DNA opublikowanych w GenBank, z czego ponad 530 to sekwencje pochodzące z roztoczy. Kontynuując analizy filogenetyczne i populacyjne, zaczynam włączać do tego nurtu badań dane pochodzące z sekwencjonowania wysokoprzepustowego, rozpoczynając od analiz typu *metabarcoding*, czyli szacowania składu gatunkowego na podstawie analizy sekwencji markerowych COI i D2 28S rRNA w metagenomie mikrostawonogów glebowych (projekt w toku, zał. 5 p.II.1-2). Planuję rozszerzenie zastosowania technik wysokoprzepustowych w badaniach populacyjnych roztoczy oraz w odniesieniu do pozyskiwania sekwencji DNA z materiału muzealnego.

Pełniłam i pełnię funkcję **promotora pomocniczego w dwóch przewodach doktorskich** związanych z analizą molekularną roztoczy, z których jeden zakończył się obroną pracy doktorskiej w lutym 2013 r. i dotyczył opracowania gatunku zbiorczego *Calyptostoma velutinum* (Actinotrichida, Parasitengona) (zał. 5 p.III.K-1), a drugi, dotyczący kompleksu gatunków *Aceria tosichella* (Actinotrichida, Eriophyoidea) (zał. 5 p.III.K-2) jest w toku. **Kierowałam pracami magisterskimi dotyczącymi** problematyki opracowania markerów molekularnych w analizie filogenetycznej i populacyjnej roztoczy. Prace te przyczyniły się m.in. do **określenia polimorfizmu osobniczego i wewnątrzgatunkowego sekwencji transkrybowanych przekładek międzygenowych w rDNA (ITS) w rodzaju *Avenzoaria*** (Actinotrichida: Analgoidea) oraz **opracowania markerów mikrosatelitarnych dla roztoczy z rodzajów *Hygrobates*** (Hydrachnida, Hygrobatidae) i ***Proctophyllodes*** (Analgoidea: Proctophyllodidae). Sprawowałam opiekę nad pracami magisterskimi dotyczącymi m.in. **identyfikacji gatunków roztoczy z rzędu Mesostigmata** (Arachnida: Anactinotrichida) **za pomocą analizy sekwencji COI, molekularnej identyfikacji ektopasożytów *Ixodida*** (Arachnida: Anactinotrichida) u *Canis lupus f. familiaris* oraz **ustalenia statusu taksonomicznego oligoksenicznego gatunku *Zachvatkinia isolata*** (Actinotrichida: Avenzoariidae). Tematyka pozostałych kilkunastu prac licencjackich i magisterskich, którymi kierowałam (zał. 5 p.III.J), była związana ze stosowaniem różnego typu markerów w diagnostyce medycznej, hodowli roślin i zwierząt oraz molekularnej identyfikacji osobnika w populacji lub dotyczyła przeglądu nowoczesnych technik analizy

DNA. Za osiągnięcia dydaktyczne zostałam wyróżniona nagrodą II stopnia przyznaną przez Rektora UAM w 2012 r.

Wiele grup roztoczy to pasożyty, ale i one często są gospodarzami innych organizmów endosymbiotycznych, często patogennych. Stąd w moich zainteresowaniach badawczych występuje nurt parazytologiczny, związany z molekularną identyfikacją patogenów eukariotycznych i prokariotycznych (Dabert M. 2006, zał. 5 p.II.D–3). W ramach tych badań **wykryłam różne gatunki gregaryn infekujące pajęczaki, w tym roztocze piór** (Dabert M. & Dabert J. 2008, zał. 5 p.II.D–2). **Uczestniczę w projektach identyfikacji patogennych bakterii przenoszonych przez kleszcze i roztocze** (Michalik et al. 2012, zał. 5 p.II.A–7) i obecnie **kieruję pracą magisterską, której celem jest opracowanie testu fluorescencyjnego do identyfikacji gatunków *Borrelia***. **Współpracuję z kolegami z Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w zakresie molekularnej identyfikacji pasożytniczych pierwotniaków** (Solarczyk et al., 2012, p.II.A–6). Z tego nurtu moich zainteresowań wynika też współpraca z Instytutem Dendrologii PAN w Kórniku **w zakresie molekularnej identyfikacji grzybów mykoryzowych** (Trocha et al. 2006, zał. 5 p. II.A–21; Trocha et al. 2011, zał. 5 p.II.A–10) i poznańskim oddziałem IHAR **w zakresie molekularnej identyfikacji patogenów grzybowych rzepaku** (prace wymienione w zał. 5 p.III.Q).

W swoich badaniach **opracowuję markery genetyczne również dla innych grup zwierząt**; na przykład kierowałam wykonaniem **molekularnej analizy płci u ptaków** (Tryjanowski et al. 2011, zał. 5 p.IIA–13), **analizy markerów STR u sarny** (Kamieniarz et al. 2011, zał. 5 p.II.A–11) i **analizy typu DNA–barcode u Schizomida** (Zawierucha et al. 2013, zał. 5 p.II.A–2). **Współpracuję z dr. H. Dastychem w zakresie analizy filogenetycznej i wykrywania specjacji kryptycznej u niesporczaków** (Tardigrada) (zał. 5 p.II.F). Pierwszym owocem tej współpracy jest praca, w której **wykazałam, że enigmatyczny rodzaj *Apodibius*, pozbawiony morfologicznych cech diagnostycznych umożliwiających jego identyfikację taksonomiczną, należy do nadrodziny Isohypsibioidea** (Dabert M. et al., praca w druku, zał. 5 p.II.A–1). Ponadto prowadzę wieloletnią współpracę naukową w zakresie projektowania i zastosowania markerów mikrosatelitarnych do badania zmienności populacyjnej i identyfikacji osobników popielicy (*Glis glis*). W wyniku tych badań **opracowałam i opublikowałam 22 polimorficzne markery STR dla tego zagrożonego w Polsce gatunku** (Dabert M. et al. 2013, zał. 5 p.II.A–4; Dabert M. et al. 2009, zał. 5 p.II.A–17; Dabert M. et al. 2003, zał. 5 p.II.D–6); wymienione publikacje były rezultatem m.in. kierowanych przeze mnie dwóch prac magisterskich. Dzięki tym markerom odkryliśmy, że populacje popielicy w Polsce, ale i w Europie, są bardzo silnie izolowane i charakteryzują się bardzo niską zmiennością genetyczną oraz mogliśmy wytypować optymalne populacje źródłowe, z których mogą pochodzić osobniki do reintrodukcji tego gatunku (zał. 5 p.III.A–1).

Część mojego dorobku naukowego wynika ze współpracy z genetykami i fizjologami roślin. Na podstawie analizy sekwencji markerów RAPD **zaprojektowałam specyficzne markery SCAR do identyfikacji gatunków wątrobowców z rodzaju *Calypogeia*** (Buczowska & Dabert M. 2011, zał. 5 p.II.A–9) **oraz do wykrywania genu czynnika restorera w rzepaku** (Mikolajczyk et al. 2008, zał. 5 p.II.A–18). **Opracowałam sekwencje genów kodujących podjednostki dehydrogenazy glutaminianowej z łubinu i zaprojektowałam markery pozwalające specyficznym wykrywać ich ekspresję** (Lehmann et al. 2010, zał. 5 p.II.A–14; Lehmann et al. 2011, zał. 5 p.II.A–12). **Kieruję analizą wybranych markerów STR w liniach hodowlanych jęczmienia** w ramach projektu POLAPGEN-BD, „Narzędzia biotechnologiczne służące do otrzymywania zbóż o zwiększonej odporności na suszę” (zał. 5 p.III.A–2).

Prowadzę wieloletnią współpracę z Państwowymi Instytutami Badawczymi w zakresie projektowania markerów genetycznych oraz metod ich analizy. W ramach współpracy z Instytutem Zootechniki PiB **opracowałam wydajną metodę analizy markerów STR dla stad hodowlanych objętych ochroną zasobów genetycznych** (zał. 5, p.III.I–3) oraz **kierowałam dwiema pracami licencyjnymi dotyczącymi oznaczania polimorfizmu pojedynczych nukleotydów w genach beta–defensyn i interleukin u drobiu**. Intensywnie współpracuję z Instytutem Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w zakresie opracowywania markerów genetycznych dla rzepaku i metod ich oznaczania. W ramach tej współpracy, oprócz wspomnianego projektowania markerów SCAR, **zaprojektowałam allelo-specyficzne markery SNP wykrywające genotypy w dwóch loci desaturazy FAD3 rzepaku** (Mikolajczyk et al. 2010, zał. 5 p.II.A–15) oraz opracowałam nowy test diagnostyczny oparty o fluorescencyjny PCR, w którym **połączyłam zaprojektowane przeze mnie allelo-specyficzne markery SNP z markerami wykrywającymi cechy wykorzystywane w uzyskiwaniu mieszańców heterozyjnych** (Mikolajczyk et al. 2012, zał. 5 p.II.D–1). Wysoko cenię sobie tę współpracę, ponieważ w ten sposób **projektowane przeze mnie testy oparte o markery DNA** znajdują praktyczne zastosowania w hodowli selekcyjnej roślin uprawnych i zwierząt hodowlanych, a dwa z nich **zyskały już ochronę patentową** (PAT.212433, PAT.211126, zał. 5 p.II.B–1, 2).

Różnorodna tematyka badawcza, jaką się zajmuję, wynika w dużej mierze ze specyfiki mojego miejsca pracy – kierowana przeze mnie pracownia to miejsce, w którym spotykają się różni naukowcy, a przez to różne pomysły na wspólne badania. Po uzyskaniu stopnia doktora byłam wykonawcą w 9 grantach KBN i MNiSW (zał. 5 p.III.3-6, 8-12), kierowałam interdyscyplinarnym projektem międzyuczelnianym (zał. 5, p.III.I-7), kierowałam grantem MNiSW (zał. 5, p.III.I-2; rok zakończenia 2013) a także jestem opiekunem naukowym interdyscyplinarnego Diamentowego Grantu MNiSW (zał. 5, p.III.I-1).

Za osiągnięcia naukowe zostałam trzykrotnie wyróżniona nagrodą Rektora UAM (zał. 5 p.II.J), natomiast w 2011 roku uzyskałam nagrodę zespołową Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za wybitne osiągnięcie naukowe za publikację włączoną do osiągnięcia habilitacyjnego (Dabert M. et al. 2010. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): Strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 222–241; zał. 8, poz. 5).

Literatura:

- Anderson, D.L. and Trueman, J.W. (2000) *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species, *Exp. Appl. Acarol.* 24 (3), 165-189
- Black IV W.C., Piesman J. (1994) Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16s rDNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 10034 -10038.
- Domes, K., Althammer, M., Norton, R.A., Scheu, S., Maraun, M., 2007. The phylogenetic relationship between Astigmata and Oribatida (Acari) as indicated by molecular markers. *Exp. Appl. Acarol.* 42, 159–171.
- Dunlop, J.A., Alberti, G., 2008. The affinities of mites and ticks, a review. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 46, 1–18.
- Klompen, H., Lekveishvili, M., Black IV, W.C. (2007) Phylogeny of parasitiform mites (Acari) based on rRNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 43, 936–951.
- Navajas M., Boursot P. (2003) Nuclear ribosomal DNA monophyly versus mitochondrial DNA polyphyly in two closely related mite species: the influence of life history and molecular drive, *Proc. R. Soc. Lond. B (Suppl.)* 270, 124–127
- Navajas M., Gutierrez J., Bonato O., Bolland H.R., Mapangou-Divasse S. (1994) Intraspecific diversity of the cassava green mite *Mononychellus progresivus* (Acari: Tetranychidae) using comparisons of mitochondrial and nuclear ribosomal DNA sequences and cross-breeding. *Exp. Appl. Acarol.*, 18:351-360.
- Pepato, A.R., Rocha, C.E.F., Dunlop, J.A. (2010) Phylogenetic position of the acariform mites: sensitivity to homology assessment under total evidence *BMC Evolutionary Biology* 2010, 10:235.
- Sonnenberg R, Nolte AW, Tautz D. (2007) An evaluation of LSU rDNA D1-D2 sequences for their use in species identification. *Frontiers in Zoology*, 4, 6.

