



Łódź, 18.08.2022 r.

**FACULTY OF BIOLOGY
AND ENVIRONMENTAL
PROTECTION**

University of Lodz

Dr hab. Marta Kolanowska, prof. UŁ
Katedra Geobotaniki i Ekologii Roślin
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

MGR ZBIGNIEWA ŁOBASA

POD TYTUŁEM

**„ZMIENNOŚĆ MORFOLOGICZNA GYNOSTEMIUM *EPIPACTIS HELLEBORINE* (L.) CRANTZ (ORCHIDACEAE, NEOTTIEAE)
I JEJ ZNACZENIE TAKSONOMICZNE”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr Zbigniewa Łobasa została wykonana pod kierunkiem Pani dr hab. Anny Jakubskiej-Busse, prof. UWr w Zakładzie Botaniki Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.

Podstawę opracowania recenzji stanowi uchwała Rady Wydziału Nauk Biologicznych nr 78/2019 z dnia 21 marca 2019 r. w sprawie wyznaczenia recenzentów w przewodzę doktorskim oraz pismo z dnia 6 lipca 2022 r. Przewodniczącego Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne UWr.

Problematyka i temat rozprawy

Tytuł przedstawionej rozprawy „Zmienność morfologiczna gynostemium *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (Orchidaceae, Neottieae) i jej znaczenie taksonomiczne” jednoznacznie definiuje postawiony problem naukowy podjęty przez doktoranta.

Niezmiernie cieszy mnie fakt, że pomimo prób dyskredytowania pracy taksonomów i propozycji ograniczenia ich prac badawczych sformułowanych przez Garnetta & Christidisa (2017) oraz pesymistycznych scenariuszy dotyczących przyszłości tej subdyscypliny nauk przedstawianych przez wielu naukowców (m. in. Baldini & al. 2021), młodzi badacze wciąż są zainteresowani problemami klasyfikacji organizmów. Wyznaczenie precyzyjnych granic między gatunkami jest szczególnie istotne w kontekście obserwowanego kryzysu bioróżnorodności i konieczności zintensyfikowania działań ochronnych.

Ze względu na specyficzne wymagania dotyczące obecności symbiotycznych grzybów oraz często ograniczoną pulę zapylaczy Orchidaceae należą do jednych z najbardziej zagrożonych organizmów. Jednocześnie, storczykowate to jedna z największych rodzin roślin naczyniowych, w obrębie której co roku opisywanych jest wiele nowych dla nauki gatunków. Wciąż trwają intensywne badania nad ustaleniem najbardziej wiarygodnej filogenezy Orchidaceae oraz opracowaniem systemu klasyfikacji storczyków. Wiele problemów sprawia naukowcom wyznaczenie granic między blisko spokrewnionymi gatunkami. Ze względu na istotną rolę zapylaczy w ewolucji storczykowatych za cechy diagnostyczne zwykle uznaje się elementy kwiatowe ściśle związane z procesem wabienia zapylacza oraz transferu pyłkowin.

Pan mgr Zbigniew Łobas postawił sobie niezwykle trudne zadanie zweryfikowania użyteczności cech morfologicznych prętosłupa jako istotnych dla identyfikacji *Epipactis helleborine*. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że klasyfikacja wewnątrzrodzajowa w obrębie kruszczyka od lat jest tematem dyskusji i pomimo opublikowania wielu wyników badań wciąż nie osiągnięto naukowego konsensusu dotyczącego koncepcji wydzielania odrębnych gatunków w obrębie poszczególnych grup *Epipactis*.

Struktura i zawartość merytoryczna rozprawy

Rozprawa została przygotowana według klasycznego opracowania monograficznego. Praca posiada spójną strukturę i składa się z siedmiu zasadniczych, numerowanych rozdziałów oraz odrębnych, nienumerowanych rozdziałów „Wstęp” oraz „Cele i hipotezy badawcze”. Rozprawa jest uzupełniona streszczeniami w języku polskim i angielskim, wykazem źródeł internetowych, 10 załącznikami oraz spisami rycin i tabel.

Całość pracy zawarta jest na 230 ponumerowanych stronach, a w jej skład wchodzi aż 77 numerowanych rycin i 88 tabel. Dokumentacja fotograficzna zaprezentowana została na w licznych załącznikach. Plansze z załączników 2-5 liczą po 225 zdjęć, natomiast plansze z załączników 7-10 zawierają po 275 zdjęć.

W siedmiostronicowym rozdziale wstęp doktorant przedstawił najważniejsze problemy związane z klasyfikacją wewnątrzrodzajową *Epipactis* a także opisał dotychczasowe koncepcje taksonomiczne rodzaju opracowane zarówno na podstawie danych molekularnych, jak i morfologicznych.

W kolejnym, nienumerowanym rozdziale Doktorant przedstawił główny cel prowadzonych badań, trzy cele szczegółowe oraz trzy hipotezy badawcze.

Rozdział zatytułowany „Charakterystyka obiektu badawczego” został podzielony na cztery podrozdziały. W pierwszym z nich doktorant opisał zmienność morfologiczną *E. helleborine* w kontekście klasyfikacji wewnątrzgatunkowej kruszczyka szerokolistnego. W tym miejscu dołączona została również 12-stronicowa tabela z zestawieniem nazw taksów wewnątrzgatunkowych i ich statusów taksonomicznych. Drugi podrozdział poświęcony został przedstawieniu informacji dotyczących rozmieszczeniu i ekologii *E. helleborine*. W trzecim podrozdziale doktorant opisał ogólną morfologię badanego gatunku ilustrując fotografiami cechy wegetatywne i generatywne kruszczyka szerokolistnego a także przedstawiając schemat graficzny planu budowy i kształtu prętosłupa. Ostatni podrozdział Wstępu zawiera podsumowanie informacji o biologii zapylania *E. helleborine*.

W rozdziale „Obszar badań” doktorant opisał położenie geograficzne czterech badanych populacji a także podał informacje dotyczące warunków klimatycznych, glebowych i hydrologicznych terenu badań.

Rozdział „Materiały i metody” został podzielony na siedem podrozdziałów. Dwa pierwsze z nich stanowią wyjaśnienie wyboru obiektu badań i stanowisk badawczych. W trzecim podrozdziale doktorant przedstawił techniki i warunki poboru prób oraz zilustrował miejsca poboru kwiatów z kwiatostanu. Czwarty podrozdział zawiera szczegółowe informacje dotyczące przygotowaniu pobranego materiału do dalszych badań oraz sposobu wykonania dokumentacji fotograficznej prętosłupa, również w tym miejscu znajduje się rycina przedstawiająca zdjęcia *gynostemium* w różnych płaszczyznach. Kolejny, krótki podrozdział zawiera informacje dotyczące sposobu wykonywania pomiarów morfometrycznych oraz schematyczne przedstawienie badanych parametrów prętosłupa. Integralną częścią tego podrozdziału są załączniki 1 oraz 6 zawierające wyniki pomiarów. Ostatnie dwa podrozdziały części metodycznej stanowią opis analiz statystycznych użytych do określenia zmienności wielkości i kąta nachylenia znamienia oraz kształtu prętosłupa. Przedstawiono w tym miejscu również dwa schematy rozmieszczenia punktów pomiarowych na *gynostemium* kruszczyka szerokolistnego.

Najobszerniejszą częścią rozprawy jest rozdział „Wyniki” (79 stron), który został podzielony na sześć podrozdziałów. W pierwszej kolejności doktorant opisał wyniki analizy wielkości i kąta nachylenia znamienia prętosłupa wypreparowanego z pąka kwiatowego (podrozdział 4.1) i rozwiniętego kwiatu (podrozdział 4.2). W tym miejscu przedstawiono korelacje między długością, szerokością i wysokością prętosłupa oraz jego kątem nachylenia. Dodatkowo w tabelach zestawiono dane dotyczące zmienności długości, szerokości, wysokości i kąta nachylenia *gynostemium* pomiędzy analizowanymi rametami oraz między analizowanymi populacjami. Wyniki zmienności zilustrowano graficznie na wykresach pudełkowych. Doktorant przedstawił również zmienność wyżej wymienionych cech w kolejnych latach badań (2017-2019) oraz zestawiał rezultaty jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA. Doktorant wykazał i graficznie zilustrował grupowanie prętosłupów w obrębie populacji oraz zachodzenie na siebie zakresów zmienności badanych cech *gynostemium*. Trzeci podrozdział wyników został podzielony na pięć kolejnych części, w których przedstawiono kolejno rezultaty prac nad *gynostemium* wypreparowanym z pąka kwiatowego. Doktorant opisał wyniki analiz składowych głównych z uwzględnieniem danych o populacji oraz analiz zmiennych kanonicznych dla prętosłupa w ujęciu bocznym, górnym, przednim oraz dolnym. Czwarty podrozdział obejmujący opis wyników analiz prowadzonych dla prętosłupa wypreparowanego z rozwiniętego kwiatu ma strukturę analogiczną do rozdziału trzeciego. Piąty podrozdział części wynikowej zawiera wizualizację wyników analiz głównych składowych oraz analiz zmiennych kanonicznych opisanych w poprzednich rozdziałach. Grafiki zostały przedstawione w formie danej konfiguracji punktów opisujących wariancję kształtu *gynostemium* połączonych liniami prostymi (*wireframe graphs*). W ostatnim, szóstym podrozdziale doktorant przedstawił schematy graficzne planu budowy i kształtu prętosłupa *E. helleborine* w stadium pąka kwiatowego oraz w stadium rozwiniętego kwiatu.

Zasadniczą część rozprawy kończy ośmiostronicowy rozdział „Dyskusja”, w którym doktorant posumował dane o grupach roślin, w których słupek w różnym stopniu zrasta się z pręcikami oraz omówił znaczenie cech morfologicznych *gynostemium* w klasyfikacji Orchidaceae. W dalszej części rozprawy omówiono kwestie związane z możliwym zniekształceniem prętosłupa w materiale zielnikowym oraz wskazano na konieczność prowadzenia badań taksonomicznych również w oparciu o materiał świeży. Doktorant przedyskutował użyteczność *gynostemium* jako cechy diagnostycznej w klasyfikacji *Epipactis* oraz podkreślił, że zgodnie z uzyskanymi wynikami badań, oznaczanie *E. helleborine* na podstawie budowy prętosłupa wypreparowanego z pąka kwiatowego jest nieuprawnione.

Rozdział kończy się zaznaczeniem ograniczeń przeprowadzonych badań, w tym niewielkiej próbie badawczej i ograniczonemu terenowi badań.

Wykaz bibliografii przedstawiony został w rozdziale numer 7. Bogata literatura (ponad 170 pozycji) jest poprawnie dobrana i bezpośrednio dotyczy zagadnień poruszanych w rozprawie doktorskiej.

Ocena rozprawy

Przedstawiona rozprawa doktorska bez wątpienia spełnia wymogi formalne stawiane tego typu pracom. Została przygotowana z dużą starannością i dbałością o kwestie edytorskie. Terminologia używana w pracy jest zgodna z obowiązującą w literaturze przedmiotu. Niekwestionowanym walorem pracy są autorskie schematy *gynostemium* oraz bogata zawartość załączników przedstawiających dokumentację fotograficzną badanych prętosłupów.

Po przeczytaniu i analizie rozprawy nasunęło mi się jednak kilka pytań oraz wątpliwości. Mam nadzieję, że Doktorant odniesie się do nich podczas publicznej obrony.

1. Doktorant już w rozdziale wstępnym wspomniał o problemie z klasyfikacją *E. helleborine*, który często traktowany jest jako takson zbiorczy. Zabrakło mi w związku z tym jasnej informacji dotyczącej identyfikacji populacji wybranych do badań. Czy populacje te zostały oznaczone jako *E. helleborine* s. str. (ssp. *helleborine*) czy też reprezentują któryś z licznych taksonów wewnątrzgatunkowych?
2. Jak wspomniano wcześniej, Doktorant poprawnie zidentyfikował ograniczenia wykonanych przez siebie badań oraz wskazał kierunki dalszych prac, które powinny zostać przeprowadzone w celu weryfikacji przydatności *gynostemium* jako cechy diagnostycznej dla identyfikacji gatunków w obrębie *Epipactis*. Nie ulega wątpliwości, że bez ustalenia zakresu zmienności cech prętosłupa w obrębie całego, bardzo szerokiego zasięgu *E. helleborine* s.l., a także przebadania blisko spokrewnionych i podobnych morfologicznie taksonów, trudno będzie jednoznacznie uznać tą cechę za użyteczną w klasyfikacji kruszczyka. Schematy przygotowane i zaprezentowane przez Doktoranta są jednak pierwszym, niezwykle ważnym krokiem w kierunku weryfikacji przydatności *gynostemium* jako cechy diagnostycznej.

Bez wątpienia budowa prętosłupa jest istotną cechą diagnostyczną wyróżniających taksony wyższego rzędu (podrodzaje, rodzaje, plemiona), jednak przydatność tej cechy na poziomie gatunku wydaje się być w mojej opinii wątpliwa. Cechy *gynostemium* w obrębie *Orchidaceae* są znacznie bardziej konserwatywne niż np. morfologia warzki i to budowa

labellum jest najczęściej stosowaną cechą diagnostyczną na poziomie gatunku. Zastanawiamnie zatem czy wybór tej cechy jako potencjalnie użytecznej w klasyfikacji *Epipactis* został poprzedzony badaniami pilotażowymi, np. przeglądem literatury czy rewizją materiału zielnikowego z większej części zasięgu *E. helleborine*.

3. Odnosząc się do metod użytych w pracach Doktoranta, chciałabym się dowiedzieć czy wypreparowane prętosłupy uległy zniszczeniu podczas pomiarów, czy zostały zakonserwowane gwarantując możliwość weryfikacji wyników badań.
4. Doktorant wykorzystał w swojej pracy analizę wariancji. Jednym z założeń tej analizy jest zbliżony do rozkładu normalnego rozkład wyników zmiennej zależnej w każdej z analizowanych grup. Niestety, nie znalazłam w rozprawie informacji o przeprowadzonym teście Kołmogorowa-Smirnowa czy Shapiro-Wilka. Na jakiej podstawie Doktorant dokonał zatem wyboru analizy ANOVA jako odpowiedniej dla zebranych danych?

Wnioski końcowe

Podsumowując, rozprawę doktorską oceniam wysoko, a sformułowane w recenzji uwagi czy pytania nie dyskredytują wartości zaprezentowanych wyników.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr Zbigniewa Łobasa pt. „Zmienność morfologiczna gynostemium *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (Orchidaceae, Neottieae) i jej znaczenie taksonomiczne” spełnia ustawowe wymogi określone dla prac doktorskich w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowych oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882 z późn. zm.) stanowiąc istotny wkład w badania nad taksonomią rodzaju *Epipactis*.

Wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pana mgr Zbigniewa Łobasa do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, na podstawie przedstawionej pracy oraz dorobku Doktoranta, który jest współautorem aż ośmiu artykułów naukowych, wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

KIEROWNIK
KATEDRY GEOBOTANIKI
I EKOLOGII ROŚLIN
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska UŁ
Kolanowska
dr hab. Marta Kolanowska, prof. UŁ