

Warszawa, dn. 27 września 2022 r.

Prof. dr hab. Krzysztof Spalik  
Instytut Biologii Ewolucyjnej  
Wydział Biologii  
Uniwersytet Warszawski  
e-mail: k.spalik@uw.edu.pl

Rada Dyscypliny Nauki Biologiczne  
Uniwersytetu Jagiellońskiego

**Recenzja pracy doktorskiej mgr. Markusa Stefana Reuta**

pt. „Systematic Biology of *Utricularia* subgenus *Polypompholyx* (Lentibulariaceae), with a Focus on the Developmental Morphology of Vegetative Organs”

Rozprawa doktorska mgr. Markusa Stefana Reuta składa się z trzech angielskojęzycznych publikacji zbiorowych opatrzonych wstępem oraz krótkim podsumowaniem. Dwa artykuły w chwili złożenia rozprawy zostały już opublikowane, trzeci był przyjęty do druku, a w chwili sporządzenia tej recenzji został już opublikowany online. We wszystkich Doktorant jest autorem pierwszym i korespondencyjnym, a w dwóch współautorem jest jedynie promotor. Oświadczenia współautorów jednoznacznie potwierdzają dominujący wkład mgr. Reuta w powstanie tych publikacji.

Artykuły ukazały się w renomowanych, selektywnych czasopismach *Protoplasma* (IF = 3.186), *Plant and Soil* (IF = 4,993) oraz *Botanical Review* (IF = 4,581). Są to uznane periodyki, co ułatwia pracę recenzentowi rozprawy, może bowiem on założyć, że artykuły zostały już wnikliwie ocenione przez specjalistów, a także – z uwagi na selektywność tych czasopism – że przedstawione tam wyniki zostały uznane za znaczące.

Rodzaj pływacz (*Utricularia*) obejmuje ok. 230-240 gatunków roślin mięsożernych, które z uwagi na swój sposób uzupełniania związków odżywczych oraz związaną z tym morfologię fascynowały wielu botaników. Tej fascynacji uległ także Pan mgr Reut, koncentrując się na morfologii i anatomii, zwykle w aspekcie rozwojowym, wybranych taksonów z podrodzaju *Polypompholyx*, w dwóch pracach z udziałem także innych podrodzajów oraz grupy zewnętrznej – reprezentantów rodzajów *Genlisea* oraz *Pinguicula*, tworzących rodzinę Lentibulariaceae.

W pierwszej pracy (Reut i Płachno, 2020, *Protoplasma* 257: 371–390) Doktorant podjął zagadnienie niezwykłego zróżnicowania organów wegetatywnych u pływacza, o zatartych granicach między – zdawałoby się – tak różnymi organami, jak pędy, korzenie i liście. Przykładowo, choć pływacze nie mają typowych korzeni, to niektóre ich rozłogi przypominają korzenie w wielu aspektach, co przypuszczalnie jest wynikiem zintegrowania się ich procesów rozwojowych. Mgr Reut wybrał do analizy *U. dichotoma*, ponieważ jest on gatunkiem lądowym o morfologii najbliższej wspólnemu przodkowi *Genlisea* i *Utricularia* oraz cechuje się dużą różnorodnością organów na pędach oraz pla-

stycznością fenotypową. Do analizy posłużył materiał z 24 źródeł – populacji naturalnych albo uprawianych w ogrodach botanicznych, wywodzących się z Nowej Zelandii, Australii i Tasmanii. Ontogeneza organów była odtwarzana na podstawie obserwacji spod skaningowego mikroskopu elektronowego, uzupełnianych przez obserwacje morfologii i anatomii spod mikroskopu świetlnego. Procesy morfogenetyczne zostały zakodowane w postaci macierzy cech porządkowych (choć z przypisanymi wartościami liczbowymi), a następnie ich podobieństwo szacowane za pomocą analizy głównych składowych (PCA). Oprócz szczegółowych opisów inicjacji organów pływacza, najważniejszym wnioskiem z tych badań jest stwierdzenie, że procesy rozwojowe organów *Utricularia* tworzą całe spectrum z pewnym rozgraniczeniem różnych rodzajów pędów oraz liści, od których wyraźnie odstaje rozwój typowego korzenia, zbadany na przykładzie *Pinguicula moranensis*. W węzłach rozłogów pływacza zawiązki (primordia) dają początek różnorodnym kombinacjom organów wegetatywnych, nie są zatem na tym etapie zdeterminowane.

Moje pytania dotyczące tej publikacji są następujące.

1. Czy wybór *U. dichotoma* jako gatunku morfologicznie zbliżonego do hipotetycznego wspólnego przodka *Utricularia* i *Genlisea* jest uzasadniony jego pozycją filogenetyczną, tzn. czy jego cechy mogą być plezjomorficzne?
2. Jak jest uzasadnienie tak szerokiego próbkowania populacyjnego? Czy obserwowana zmienność rozwojowa była rzeczywiście zmiennością między-, a nie wewnątrzpopulacyjną? W pracy jest ona jedynie słownie opisana, a nie została poddana żadnej analizie. Może do tych samych wniosków można było dojść, analizując tylko jedną populację? W pracy zauważona jest odmienność populacji z Kopouatai i Strathgordon – czy była to jednak rzeczywiście zmienność międzypopulacyjna, a nie wynik losowego, skąpego próbkowania?
3. Czy zastosowanie PCA do analizy procesów rozwojowych, kodowanych w postaci zmiennych porządkowych, kodowanych dość arbitralnie, jest uzasadnione? Choć rozumiem, że może ona posłużyć do wizualizacji danych porządkowych, to jednak liczenie korelacji tak uzyskanych zmiennych oraz elips ufności nie wydaje mi się właściwe. Czy nie lepiej byłoby zmienne ilościowe, np. średnie mierzonych cech, pozostawić w oryginalnej postaci, a cechom nazwowym nie nadawać arbitralnego porządku, ale rozbić na cechy dwustanowe? Tak przygotowaną macierz można analizować metodą mieszanej PCA (np. PCAmixdata z pakietu R).

Druga publikacja składająca się na rozprawę (Reut i wsp., 2021, Plant Soil 464: 237–255) dotyczy międzygatunkowej zmienności organów wegetatywnych pływaczy w gradiencie siedliskowym – od roślin bytujących w siedliskach okresowo zalewanych po typowe, zanurzone hydrofity. Doktorant udokumentował tę zmienność na przykładzie 13 gatunków pływaczy reprezentujących wszystkie podstawowe formy życiowe występujące w tym rodzaju, porównując je z przedstawicielami innych, typowo lądowych, rodzajów Lentibulariaceae. Potwierdził opisane już na innych przykładach tendencje, jak zanik tkanek okrywających, wzmacniających i przewodzących przy pojawianiu aerenchymy oraz zmianie morfologii liści – silniej powcinanych oraz o węższych łatkach u taksonów wodnych.

Badania z zakresu biologii porównawczej, do której aspiruje ta publikacja, a zwłaszcza analizy ewolucji cech w kontekście zmiennych siedliskowych, stoją przed wyzwaniem rozróżnienia między współzmiennością wynikającą z konwergencji (którą zazwyczaj chcemy wykazać), a odzwierciedlającą wspólne pochodzenie. W wypadku cech ilościowych (wyrażonych liczbami rzeczywistymi) można stosować metodę kontrastu filogenetycznego, natomiast analiza cech jakościowych (binarnych, nominalnych i porządkowych) jest trudniejsza, wszystkie bowiem dotychczas stosowane podejścia zostały zakwestionowane. Pozostaje jedynie analiza ewolucji cech na drzewie filogenetycznym, czyli mapowanie. Szkoda, że Doktorant takiej analizy nie dokonał, tym bardziej, że dysponował wszystkimi danymi – był bowiem współautorem doskonałej pracy o filogenezie podrodzaju *Polypompholyx* (Jobson, Baleeiro i Reut, 2017, Austr. Syst. Bot., 30: 259–278). Jego wnioski o ewolucji morfologii i anatomii w gradiencie środowiskowym byłyby wtedy mocniejsze.

Jak poprzednio, moje wątpliwości budzi analiza PCA. Wśród wybranych do analizy zmiennych (tabela 3) są cechy porządkowe (np. grubość liścia), ale także cechy nominalne (nazwowe), którym przypisano arbitralne wartości liczbowe w skali porządkowej. Przykładem jest cecha *Organy kotwiczące* z trzema stanami: *korzenie obecne* (1), *rozłogi kotwiczące (ryzoidy) obecne* (2), *korzeni/ryzoidów brak* (3). Przy takim kodowaniu odległość na osi opisująca utratę korzeni równa się 2, a utratę ryzoidów – tylko 1. Ta cecha powinna być rozbita na dwie cechy dwustanowe (ze stanami *obecne/brak*). Podobne zastrzeżenia można wysunąć do kodowania takich cech, jak forma życiowa, umiejscowienie rozłogów, forma liścia itd. W efekcie trudno powiedzieć, czy wyniki PCA rzeczywiście oddają pewne zależności, czy są jedynie artefaktem przyjętego kodowania, implikującego subiektywny porządek.

Ostatnia publikacja, prezentowana w formie maszynopisu, a obecnie już dostępna na stronie czasopisma *Botanical Review*, jeszcze bez wskazania numeru i stron, ma – zgodnie z profilem czasopisma – w części charakter przeglądowy, ale w części oryginalny, prezentujący obserwacje nad kiełkowaniem i organogenezą oraz morfologią rozłogów dla wybranych taksonów. Obserwacje te uzupełniono danymi literaturowymi, opracowując macierz 10 cech dla 56 gatunków z podrodzaju *Polypompholyx* i poddając je PCA jak poprzednio. Niestety, w tej analizie jeszcze bardziej widać arbitralność kodowania cech, zwłaszcza przynależności gatunków do określonego kladu oraz ich zasięgu geograficznego – są to bowiem cechy nazwowe, a nie porządkowe. Trudno z tego powodu ocenić, czy wynik grupowania przedstawiony na rycinie nr 3 jest wiarygodny.

Podsumowując, najwartościowszy w ocenianej rozprawie jest jej aspekt opisowy, stanowiący istotny wkład do poznania i zrozumienia wewnątrz- i międzygatunkowej różnorodności morfoanatomicznej pływaczy, szczególnie w aspekcie ekologicznym. Do tych wyników niewątpliwie będą musieli się odnieść inni badacze zajmujący się tą niezwykle interesującą grupą roślin. Imponuje rozległa wiedza Doktoranta o pływaczach, zwłaszcza z podrodzaju *Polypompholyx*, bardzo dobrze zaprezentowana w składających się na rozprawę publikacjach – co znalazło uznanie redaktorów i recenzentów bardzo prestiżowych periodyków. Zastrzeżenia budzi natomiast sposób kodowania cech do PCA, co utrudnia weryfikację konkluzji pracy. Pragnę jednak podkreślić, że moje wy-

czulenie (a może nawet przeczulenie) na poprawne stosowanie PCA wynika przede wszystkim z tego, że sam takie błędy kiedyś popełniałem („kto jest bez grzechu, niech pierwszy rzuci kamieniem”).

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami). Wniosuję zatem do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pana mgr. Markusa Stefana Reuta do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.



Krzysztof Spalik