

AUTOREFERAT

dr Marcin Górniak

Dziedzina nauk ścisłych i przyrodniczych

Dyscyplina: nauki biologiczne

Katedra Genetyki Ewolucyjnej i Biosystematyki

Wydział Biologii

Uniwersytet Gdański

Gdańsk, 2023

1. Imię i nazwisko

Marcin Górniak

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

Tytuł zawodowy magistra biologii - Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii, Uniwersytet Gdański, 2001 r., tytuł pracy magisterskiej: Konstrukcja molekularnego klucza do identyfikacji gatunków z rodzajów *Cetraria* Ach., *Platismatia* W. Culb. i *C. Culb.* i *Tuckermannopsis* Gyel., promotor prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn.

Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii - Instytut Biologii, Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii, Uniwersytet Gdański, 2007 r., tytuł rozprawy doktorskiej: Klasyfikacja rzędu Orchidales w świetle analiz wybranych fragmentów DNA, promotor prof. dr hab. Dariusz L. Szlachetko.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2005 – 2006	Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, Wydział Biologii UG - starszy technik
2007 – 2008	Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, Wydział Biologii UG - specjalista
2008 – 2013	Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, Wydział Biologii UG - adiunkt
2013 – 2021	Katedra Ewolucji Molekularnej, Wydział Biologii UG – adiunkt
2021 – obecnie	Katedra Genetyki Ewolucyjnej i Biosystematyki UG – adiunkt

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Wykorzystanie niskokopijnych jądrowych markerów molekularnych w analizach filogenetycznych na różnych poziomach taksonomicznych w rodzinie Orchidaceae

4.2 Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

Osiągnięcie przedstawione do oceny stanowi cykl pięciu powiązanych tematycznie publikacji, które zostały przygotowane i opublikowane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Wszystkie artykuły opublikowano w czasopismach z listy JCR (kwartył Q1-Q3). Jestem autorem korespondującym wszystkich prac, w trzech z nich autorem pierwszym. Sumaryczny Impact Factor publikacji tworzących osiągnięcie z roku opublikowania wynosi **17,912** (21,619 IF 5-letni). Ogólna liczba ich cytowań: **125** (Web of Science), **131** (Scopus). Łączna wartość bibliometryczna publikacji składających się na osiągnięcie wynosi **97** punktów wg wykazu z 25.01.2017 r. i **180** punktów wg wykazu z 21.12.2021 r. (razem **277** punktów):

1. **Górniak, M***, Paun, O., Chase, M.W. Phylogenetic relationships within Orchidaceae based on a low-copy nuclear coding gene, *Xdh*: Congruence with organellar and nuclear ribosomal DNA results. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2010, 56, 784–795. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.03.003>
IF₂₀₁₀: **3.889**, kwartył (JIF): **Q1**; punktacja MNiSW¹: 32
liczba cytowań: **94** (WoS); **98** (Scopus)

Mój wkład autorski w tworzenie publikacji obejmował: opracowanie koncepcji pracy, udział w projektowaniu nowych starterów do amplifikacji genu *Xdh* dla przedstawicieli rodziny Orchidaceae, izolację, amplifikację i sekwencjonowanie DNA, zdeponowanie sekwencji w bazie NCBI, przygotowanie matrycy do analizy, analizę filogenetyczną, analizę literatury, napisanie manuskryptu, sporządzenie rycin, wprowadzenie w tekście zmian zgodnych z sugestiami recenzentów, odpowiedzi na recenzje. Mój wkład szacuję na 80%.

2. Szlachetko, D.L., Kolanowska, M., Muller, F., Vannini, J., Rojek, J., **Górniak, M***. First Guatemalan record of natural hybridisation between Neotropical species of the Lady's Slipper orchid (Orchidaceae, Cyripedioideae). *PeerJ* 2017, 5, e4162. <https://doi.org/10.7717/peerj.4162>
 IF₂₀₁₇: **2,118**, kwartyl (JIF): **Q2**; punktacja MNiSW¹: **35**
 liczba cytowań: **11** (WoS), **12** (Scopus)

Mój wkład autorski w tworzenie publikacji obejmował: opracowanie koncepcji pracy, izolację, amplifikację i sekwencjonowanie DNA, przygotowanie matrycy do analizy, analizę filogenetyczną, analizę literatury, napisanie dyskusji do manuskryptu, sporządzenie części rycin, wprowadzenie w tekście zmian zgodnych z sugestiami recenzentów, odpowiedzi na recenzje. Mój wkład szacuję na 50%.

3. Szlachetko, D. L., **Górniak, M***, Kowalkowska, A. K., Kolanowska, M., Jurczak-Kurek, A., and Morales, F. A. The natural history of the genus *Cyripedium* (Orchidaceae). *Plant Biosyst. Int. J. Deal. Aspects Plant Biol.* 2020, 155, 772–796.
 IF₂₀₂₁: **1,781**, kwartyl (JIF): **Q3**; punktacja MEiN²: **40**
 liczba cytowań: **8** (WoS), **7** (Scopus)

Mój wkład autorski w tworzenie publikacji obejmował: opracowanie koncepcji pracy, izolację, amplifikację i sekwencjonowanie DNA, zdeponowanie sekwencji w bazie NCBI, przygotowanie matryc do analizy, analizy filogenetyczne, wykonanie zdjęć mikromorfologicznych oraz w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM), analizę literatury, napisanie manuskryptu, sporządzenie rycin 1-6, wprowadzenie w tekście zmian zgodnych z sugestiami recenzentów, odpowiedzi na recenzje. Mój wkład szacuję na 60%.

4. **Górniak, M***, Szlachetko, D.L., Kowalkowska, A.K., Bohdanowicz, J., Canh, C.X. Taxonomic placement of *Paphiopedilum canhii* (Cyripedioideae; Orchidaceae) based on cytological, molecular and micromorphological evidence. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2014, 70, 429–441. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.08.016>
 IF₂₀₁₄: **3,916** kwartyl (JIF): **Q1**; punktacja MNiSW¹: **30**
 liczba cytowań: **10** (WoS), **11** (Scopus)

Mój wkład autorski w tworzenie publikacji obejmował: opracowanie koncepcji pracy, zaprojektowanie nowych starterów do amplifikacji genu *Xdh* dla przedstawicieli podrodziny Cyripedioideae, izolację, amplifikację i sekwencjonowanie DNA, zdeponowanie sekwencji w bazie NCBI, przygotowanie matryc do analizy, analizy filogene-

tyczne, wykonanie zdjęć mikromorfologicznych oraz w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM), analizę literatury, napisanie manuskryptu, sporządzenie części rycin, wprowadzenie w tekście zmian zgodnych z sugestiami recenzentów, odpowiedzi na recenzje. Mój wkład szacuję na 80%.

5. **Górniak, M***, Szlachetko, D.L., Olędryńska, N., Naczek, A.M., Mieszkowska, A., Boss, L., Ziętara, M.S. Species phylogeny versus gene trees: A case study of an incongruent data matrix based on *Paphiopedilum* Pfitz. (Orchidaceae). *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 11393. <https://doi.org/10.3390/ijms222111393>

IF₂₀₂₁: **6,208** , (JIF): **Q1**; punktacja MEiN²: **140**

liczba cytowań: **2** (WoS); **3** (Scopus)

Mój wkład autorski w tworzenie publikacji obejmował: opracowanie koncepcji pracy, zaprojektowanie nowych starterów do amplifikacji genu *PhyC* dla przedstawicieli podrodziny Cypripedioideae, izolację, amplifikację i sekwencjonowanie DNA, zdeponowanie sekwencji w bazie NCBI, przygotowanie matryc do analizy, analizy filogenetyczne, analizę literatury, napisanie manuskryptu, sporządzenie rycin, wprowadzenie w tekście zmian zgodnych z sugestiami recenzentów, odpowiedzi na recenzje. Mój wkład szacuję na 85%.

*Autor korespondujący

¹ Punktacja na podstawie wykazu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017r.

² Punktacja na podstawie wykazu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021r.

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Pomimo licznych badań dotyczących filogenezy poszczególnych taksonów Orchidaceae Juss., klasyfikacja wielu jednostek systematycznych wciąż budzi wiele kontrowersji i dyskusji. Dotychczasowe systemy klasyfikacyjne tworzone były w oparciu o rozmaite cechy budowy, zarówno wegetatywnej, generatywnej, jak i genotypowej, a liczba publikacji z tego zakresu ukazuje, że problem usystematyzowania tego licznych gatunków i rodzajów oraz bardzo zróżnicowanego taksonu pozostaje wciąż otwarty. Tradycyjne systemy taksonomiczne opierają się na cechach morfologicznych i anatomicznych. W wyniku konwergencji pod wpływem presji zapylaczy pewne cechy

morfologiczne kwiatów wykształciły się niezależnie w toku ewolucji u różnych gatunków. Wybór tych cech do analizy prowadzi do stworzenia taksonów polifiletycznych. Rozwiązaniem tych problemów, miało być zastosowanie szybko rozwijających się technik biologii molekularnej (PCR, sekwencjonowanie DNA), które obecnie powszechnie wykorzystuje się w badaniach taksonomicznych. Zastosowanie technik molekularnych pozwoliło ustalić powiązania filogenetyczne pomiędzy badanymi grupami roślin. Badania taksonomiczne Orchidaceae z użyciem cech molekularnych prowadzone były zarówno na poziomie niższych jednostek systematycznych (rodzaje, plemiona) oraz na poziomie rodziny. Ze względu na poziom zmienności markerów molekularnych w pierwszym przypadku wykorzystywano niekodujące markery chloroplastowe oraz fragment ITS1-5,8S rDNA-ITS2 z genomu jądrowego (nrITS), będący częścią powtarzalnej jednostki transkrypcyjnej rDNA. Z kolei na poziomie rodziny skupiono się na genach kodujących białka z genomu plastydowego takich jak *rbcl* (Cameron et al. 1999, Chase et al. 1994), *matK* (Freudenstein et al. 2004, **Górniak 2007**), *psaB* (Cameron 2004) oraz *ycf1* (Neubig et al. 2009). Dodatkowo wykorzystano badania z udziałem jądrowej sekwencji kodującej fragment 18S rDNA (Cameron and Chase 2000) i mitochondrialny intron *nad1 b-c* (Freudenstein and Chase 2001). Ze względu na niewielką zmienność obu wspomnianych markerów analizy filogenetyczne z ich udziałem nie rozwiązały relacji filogenetycznych wewnątrz poszczególnych podrodzin.

Dodatkowym problemem w określeniu pokrewieństwa w rodzinie Orchidaceae jest powszechna hybrydyzacja międzygatunkowa i międzyrodzajowa. Ze względu na mateczny typ dziedziczenia markerów chloroplastowych, które standardowo stosowane są w systematyce molekularnej, ukazują one filogenezę tylko jednego z rodzicielskich gatunków (*ang. chloroplast capture*), utrudniając w ten sposób poznanie historii ewolucyjnej badanej grupy. Analogiczny problem może dotyczyć stosowania powtarzalnych jednostek transkrypcyjnych rDNA (włączając w to nrITS) gdyż podlegają one procesom ewolucyjnym, które powodują homogenizację jednostek rDNA (*ang. concerted evolution*). Weryfikację wyników otrzymanych na podstawie analizy sekwencji

pochodzących z genomów przekazywanych jednorodzicielsko lub rDNA, można przeprowadzić za pomocą niskokopijnych markerów jądrowych kodujących białka.

W **publikacji 1** wykorzystałem fragment niskokopijnego genu *Xdh* do rozwiązywania problemów taksonomicznych na poziomie rodziny Orchidaceae. Ze względu na pewne ograniczenia markera nrITS także do filogenezy na niższych poziomach taksonomicznych (Cox et al. 1997, Chochai et al. 2012), podjąłem wyzwanie aby sprawdzić, czy niskokopijne markery jądrowe można także wykorzystać do rozwiązywania problemów taksonomicznych na poziomie rodzaju. Jako model wybrałem storczyki charakteryzujące się występowaniem dwóch płodnych pręcików oraz szczególną budową warzki, która swoim kształtem przypomina pantofelek (Cyripedioideae). Podrodzina ta obejmuje pięć rodzajów: *Selenipedium* Rchb.f., *Cypripedium* L., *Phragmipedium* Rolfe, *Mexipedium* V.A.Albert & M.W.Chase i *Paphiopedilum* Pfitzer.

W badaniach nad tą grupą storczyków wykorzystałem informacje pochodzące zarówno z badań molekularnych, cytologii i morfologii (makromorfologiczne i mikromorfologiczne) (**publikacje 2-5**). W opublikowanych pracach przedstawiam relacje filogenetyczne uzyskane na podstawie analiz sekwencji DNA oraz wykorzystuję zegar molekularny do określenia wieku rozejścia się poszczególnych linii filogenetycznych analizowanych gatunków w kontekście zmian geologicznych, które miały miejsce w eocenie i miocenie.

Do swoich prac wybrałem dwa najliczniejsze w gatunki rodzaje: *Cypripedium* (**publikacja 2 i 3**) i *Paphiopedilum* (**publikacja 4 i 5**). Dotychczasowe publikacje wskazują na wiele nierozwiązanych problemów odnośnie filogenezy i systematyki wewnątrzrodzajowej tych taksonów (Cox et al. 1997, Chochai et al. 2012, **publikacja 4**, Guo et al. 2015). Badania molekularne oparte wyłącznie o jądrową sekwencję nrITS w wielu przypadkach nie potwierdzają klasyfikacji opierającej się o cechy morfologiczne. W przypadku rodzaju *Paphiopedilum* także analizy niskokopijnych markerów jądrowych ukazały nierozwiązane topologie lub topologie będące ze sobą w konflikcie (Guo et al. 2015).

Często wykorzystanie pojedynczego genu do tworzenia systemu klasyfikacyjnego obarczone jest błędem, gdyż analiza wybranych sekwencji DNA, wykorzystywana jest jako źródło informacji filogenetycznej o całym organizmie. Natomiast analiza dwóch różnych genów może wykazać różny przebieg linii ewolucyjnych (Guo et al. 2015). Należy pamiętać o tym, że obserwowana zmienność sekwencji, może być wynikiem homoplazji, rekombinacji, niekompletnego sortowania linii filogenetycznych lub nawet odczytania pseudogenu sekwencji, w związku, z czym nie zawsze odpowiada filogenezie taksonu. Dlatego bardzo istotne jest to, aby do analizy włączyć jak największą liczbę markerów molekularnych.

W swoich pracach, krytycznie analizuję filogenezę uzyskaną w oparciu o cechy molekularne, konfrontując ją z koncepcją morfologiczną. Wskazuję także na prawdopodobne przyczyny (stawiam hipotezę) tych niezgodności. Badania które prowadzę wpisują się w jeden z głównych nurtów badawczych współczesnej biologii. Moje publikacje, które wchodzi w skład osiągnięcia habilitacyjnego wypełniają przestrzeń pomiędzy erą nrITS a NGS (*ang. next-generation sequencing*). NGS otworzyło perspektywę poznania znacznej części materiału genetycznego poprzez zastosowanie techniki RADseq (*ang. restriction site-associated DNA sequencing*). W wielu przypadkach przywróciło koncepcje morfologiczne, które zostały wyparte przez filogenezę nrITS (Brandrud et al. 2018). Pomimo wielu zalet NGS, stoję na stanowisku, że wykorzystanie kilku markerów jądrowych wraz z analizą cech morfologicznych pozwala na odtworzenie historii ewolucyjnej badanych taksonów bez konieczności posiadania wysokobudżetowych projektów.

Publikacja 1: Phylogenetic relationships within Orchidaceae based on a low-copy nuclear coding gene, *Xdh*: Congruence with organellar and nuclear ribosomal DNA results

Pierwsza praca dotyczy określenia relacji filogenetycznych w obrębie rodziny Orchidaceae na podstawie fragmentu niskokopijnego genu jądrowego *Xdh*. Próby

klasyfikacji rodziny Orchidaceae sięgają XVIII wieku (Juss). Od tego czasu powstało wiele systemów klasyfikacji opartych o analizę cech morfologicznych (Burns-Balogh and Funk 1986, Dressler 1981, 1993, Rasmussen 1985, Szlachetko 1995). Ze względu na wykorzystanie różnych cech morfologicznych lub nadanie szczególnej wagi pewnym cechom, współczesne systemy są ze sobą w konflikcie. Wykorzystanie cech molekularnych jakimi są sekwencje DNA pozwoliło na weryfikację istniejących systemów w oparciu o cechy przekazywane dziedzicznie. Syntezę klasyfikacji molekularnej w oparciu o dziesiątki publikacji przedstawił Chase et al. (2003) który zaproponował 5 podrodzin, które prezentuję poniżej w postaci drzewa w formacie Newick: (Apostasioideae, (**Vanilloideae**, (Cypripedioideae, (**Epidendroideae**, **Orchidoideae**)));). Wyróżnienie wskazanych podrodzin było zgodne z niektórymi ujęciami morfologicznymi, natomiast relacje filogenetyczne między nimi były kontrowersyjne, gdyż wskazywały, że cecha jaką jest jeden płodny pręcik (podrodziny posiadające tę cechę zaznaczono pogrubioną czcionką) wykształcił się dwa razy w toku ewolucji Orchidaceae. Systemy w oparciu o morfologię wskazywały na monofiletyczność storczyków jednoprzecikowych: (Apostasioideae, (Cypripedioideae, (**Vanilloideae**, (**Epidendroideae**, **Orchidoideae**)));).

W niniejszej pracy używając metody parsymonii oraz analizy bayesowskiej, oszacowałem relacje filogenetyczne w obrębie rodziny Orchidaceae, skupiając się na podrodzinach i plemionach. Sekwencje DNA fragmentu genu *Xdh* uzyskałem dla 154 taksonów, w tym 126 rodzajów Orchidaceae oraz taksonów z grupy zewnętrznej. Do czasu ukazania się omawianego artykułu, którego jestem pierwszym autorem systematyka molekularna Orchidaceae opierała się wyłącznie o fragmenty chloroplastowego DNA, niekodujące fragmenty genomu mitochondrialnego oraz jądrowe powtarzalne rDNA. Wybór markera *Xdh* okazał się bardzo trafny, lecz wymagał „niewolniczej” pracy w laboratorium. Efekty jednak były bardzo spektakularne. Poziom zmienności omawianego markera przyczynił się do określenia relacji filogenetycznych w obrębie rodziny Orchidaceae. Ogólna topologia drzew *Xdh* jest zgodna z opublikowanymi wcześniej drzewami filogenetycznymi. Pięć rozpoznanych podrodzin

jest monofiletycznych i dobrze wspartych. Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują, że stan monandryczny wyewoluował niezależnie u przodka Vanilloideae i Epidendroideae/Orchidoideae.

Moja analiza wyjaśniła także relacje między plemionami w podrodzynie Epidendroideae, takimi jak Vandaeae *sensu lato* do Collabieae oraz Epidendreae do Calypsoeae i Malaxideae do Dendrobieae. Również pozycja filogenetyczna tzw. „trudnych” taksonów jak *Bromheadia* Lind., *Imerinaea* Schltr. i *Sirhookera* Kuntze, których pozycja filogenetyczna była niejasna została rozwiązana.

Także relacje filogenetyczne bezzieleniowych (nieposiadających aktywnych genów plastydowych) gatunków z rodzajów *Corallorhiza* Châtel., *Gastrodia* R.Br., *Limodorum* L., *Neottia* Guett., *Wulfschlaegelia* Rchb. f. po raz pierwszy zostały poddane analizie w tak szerokiej skali w badaniach filogenetyki molekularnej. Przeprowadzone później analizy w oparciu o wyniki sekwencjonowania NGS na podstawie 292 niskokopijnych genów jądrowych (Pérez-Escobar et al. 2021), potwierdziły moje wyniki i wnioski co potwierdziło moje założenie, że odpowiednia analiza pojedynczych markerów jest w stanie doprowadzić do takich samych wyników. Bezpośrednim dowodem naukowego zainteresowania moimi wynikami jest częste cytowanie tego artykułu. Zakładam, że w momencie oceny mojego dorobku naukowego osiągnie wartość 100 cytowań w bazie Scopus.

Publikacja 2: First Guatemalan record of natural hybridisation between Neotropical species of the Lady's Slipper orchid (Orchidaceae, Cyripedioideae)

W 2008 roku pierwszy autor niniejszego artykułu otrzymał zestaw kolorowych zdjęć wielokwiatowych gatunków z rodzaju *Cyripedium* L., wykonanych przez Freda Mullera, entuzjastę storczyków z Gwatemali. Pan Muller podejrzewał, że odkrył naturalnie występującą hybrydę w sympatrycznej populacji *C. irapeanum* Lex. i *C. dickinsonianum* Hágsater. Wcześniejsze doniesienia wskazywały, że pomiędzy wspomnianymi gatunkami nie dochodzi do hybrydyzacji (Hágsater 1984, Cribb 1997).

Oba wspomniane gatunki oraz *C. molle* Lindl. należą do sekcji *Irapeana*. Od czasu odkrycia domniemanej hybrydy zarówno *C. irapeanum*, jak i *C. dickinsonianum* nadal utrzymują stabilne populacje w tym konkretnym miejscu. Także wiele osobników domniemanej hybrydy kwitło każdego roku od ich odkrycia. Obserwacje przeprowadzone przez Freda Mullera wykazały, że oba gatunki są zapylane przez małe gatunki z rodzaju *Trigona* (Jurine, 1807) a także inne rodzaje małych pszczoł. W populacji tej zaobserwowano także wysoki odsetek zawiązanych owoców. Po nawiązaniu współpracy z panem Mullerem mieliśmy okazję zbadać morfologię mieszanej populacji, dokonać analizy zmienności markerów molekularnych oraz wykonać badania embriologiczne domniemanego nowego taksonu *Cypripedium*.

Aby dokonać detekcji hybrydyzacji wykorzystałem fragment nrITS, niskokopijny marker *Xdh* i fragment plastydowego genu *matK*. Oszacowałem zmienność tych markerów dla osobników z sympatrycznej populacji oraz dodatkowo zmienność *C. molle*, który jest blisko spokrewniony z *C. irapeanum*. Ocena zmienności markera *Xdh* gwarantowała mi możliwość detekcji hybrydyzacji, gdyż opieranie wniosków wyłącznie o wielokopijny marker nrITS może być niewystarczające. Na podstawie analizy zmienności obu markerów jądrowych stwierdziłem heterogenność sekwencji wykazując obecność allelu ITS i allelu *Xdh* *C. irapeanum*, jak i *C. dickinsonianum* w genomie potencjalnej hybrydy. Z kolei identyczność fragmentu chloroplastowego hybrydy i *C. irapeanum* pozwoliła mi na wskazanie *C. irapeanum* jako linii macecznej (*ang. seed parent*).

Interesującą dla mnie kwestią było także sprawdzenie czy badane hybrydy są zdolne do rozmnażania. Populacje hybrydowe, zwłaszcza pokolenie F1, są dotknięte obniżeniem płodności, co skutkuje zarówno słabą żywotnością nasion, jak i produkcją niezrównoważonych gamet (Rieseberg 1997). W tym celu zaprosiłem do projektu dr Joannę Rojek, specjalizującą się w embriologii roślin, która wykazała niezakłócony rozwój zalążków i megagametofitów sugerujący, że hybryda *C. fred-mulleri* z dużym prawdopodobieństwem jest płodna.

Opierając się na dowodach przepływu genów między *C. dickinsonianum*

i *C. irapeanum* oraz pewnych mieszanych cechach morfologicznych badanej populacji odkrytej przez pana Mullera w Gwatemali, zdecydowaliśmy się opisać ją jako pierwszego naturalnego mieszańca w sekcji *Irapeana* pod nazwą *Cypripedium fred-mulleri* Szlach., Kolan. & Górniak, hybr. nov.

Moją pracą wskazałem na potrzebę użycia niskokopijnych markerów jądrowych do detekcji hybrydyzacji jako uzupełnienie alfa taksonomii, gdyż cechy morfologiczne nie zawsze potwierdzają ściśle hybrydowe pochodzenia badanych okazów mieszańcowych. *C. fred-mulleri* jest bardziej podobny do *C. irapeanum* niż do *C. dickinsonianum* pod względem morfologii kwiatów. Taki fenomen, wskazujący na podobieństwo kwiatów mieszańca do linii matecznej jest powszechne w obrębie rodziny Orchidaceae (Bateman & Farrington 1987, Bateman & Hollingsworth 2004, Bateman, Smith & Fay 2008, R. Bateman pers. comm. 2017).

Publikacja 3: **The natural history of the genus *Cypripedium* (Orchidaceae)**

Jednym z najbardziej interesujących pod względem taksonomicznym i biogeograficznym rodzajem storczyka jest niewątpliwie rodzaj *Cypripedium*. Chociaż przedstawiciele *Cypripedium* są łatwo odróżnialne od innych storczyków obuwikowatych przez ich plisowane liście i jednokomorową załącznię, niektóre gatunki zostały uznane za członków mniejszych rodzajów: *Arietinum* L.C. Beck, *Calceolus* Mill., *Criosanthes* Raf., *Fissipes* Small, *Hypodema* Rchb. lub *Sacodon* Raf. Jednak żadne z tych propozycji nie są obecnie akceptowane. Ostatnie intensywne badania nad klasyfikacją wewnątrzrodzajową *Cypripedium* doprowadziły do znacznego wzrostu liczby sekcji. W koncepcji Cribba (1997) gatunki *Cypripedium* zostały włączone do 11 różnych sekcji. Dodatkowa sekcja - *Sinopedilum* - została niedawno zaproponowana przez Perner (2008). Podział *Cypripedium* na dwa podrodzaje i 13 sekcji został zaakceptowany przez Eccarius (2009).

Chociaż *Cypripedium* jest uważany za rodzaj monofiletyczny (Cox et al. 1997, Cribb 1997, Eccarius 2009), relacje między sekcjami reprezentującymi gatunki azjatyckie i północnoamerykańskie pozostają niejasne. Ostatnie badania molekularne wskazały na

monofiletyczne zgrupowanie ośmiu sekcji (*Subtropica*, *Obtusipetala*, *Trigonopedia*, *Sinopedilum*, *Bifolia*, *Flabelinervia*, *Arietinum* i *Cypripedium*) oraz parafyletyczne grupowanie sekcji *Irapeana* i *Retinervia* oraz podsekcji *Macrantha* i *Cypripedium* z sekcji *Cypripedium* (Li et al. 2011).

Na podstawie molekularnej analizy filogenetycznej w oparciu o nrITS i chloroplastowe fragmenty DNA (Li et al. 2011), Liu et al. (2012), Chen i Liu (w Chen et al. 2013) zasugerowali utworzenie dodatkowych monotypowych sekcji (*Californica*, *Palangshanensia*, *Wardiana*). Łączna liczba sekcji w rodzaju *Cypripedium* wyniosła 15. Na podstawie tej samej pracy Frosch i Cribb (2012) podzielili rodzaj na 13 sekcji. Najważniejszą różnicą było włączenie *C. palangshanense* do sekcji *Enantiopedilum* oraz *C. wardii* do sekcji *Subtropica*. Choć oparte na tych samych wynikach (Li et al. 2011), oba systemy różnią się także składem gatunkowym podsekcji *Macrantha* oraz *Cypripedium* w obrębie sekcji *Cypripedium*. Jedynie w klasyfikacji Chen i Liu (w Chen et al. 2013) sekcja *Macrantha* jest monofiletyczna. Jednak w obu systemach podsekcja *Cypripedium* jest polifiletyczna. Autorzy utrzymali zgrupowanie podsekcji *Cypripedium* na podstawie cech morfologicznych, pozostawiając gatunki azjatyckie: *C. calceolus* L., *C. shanxiense* S.C. Chen, *C. henryi* Rolfe i *C. segawae* Masam. wraz z gatunkami północnoamerykańskimi.

W moich badaniach postanowiłem rozwiązać opisany konflikt stosując dodatkowo fragment niskokopijnego genu *Aco* z genomu jądrowego. Analiza tego markera zgodna jest z wynikami uzyskanymi na podstawie analizy fragmentu nrITS (Li et al. 2011, **publikacja 3**). Na tej podstawie zdecydowałem się połączyć obie matryce, aby zwiększyć sygnał filogenetyczny. Uzyskane wyniki z matrycy nrITS/*Aco* (zauważalny wzrost wsparcia testem bootstrap) wskazują na polifiletyczny charakter podsekcji *Cypripedium*. Dodatkowo w niniejszej pracy wykonałem także ponowną analizę (stworzyłem nowe uszeregowanie) markerów chloroplastowych z pracy Li et al. (2011) otrzymując w moich analizach kład podsekcji *Cypripedium* wsparty testem bootstrap na poziomie 91. Otrzymany przeze mnie wynik tłumaczę alternatywnym do Li et al. (2011) uszeregowaniem matrycy DNA.

Wykazałem zatem, prawdopodobny konflikt pomiędzy regionami chloroplastowymi a jądrowymi, wskazując na możliwy proces hybrydyzacji w tej grupie. Do ostatecznego rozwiązania tego konfliktu wymagana jest zdecydowanie większa liczba jądrowych markerów molekularnych, gdyż genomy potencjalnych mieszańców mogą być mozaikowate. Z tego też względu zasugerowaliśmy utrzymanie podejścia Li et al. (2011) w odniesieniu do podsekcji *Cypripedium* opierając się na cechach morfologicznych oraz analizie chloroplastowego DNA.

W niniejszej pracy oszacowałem także czas dywergencji poszczególnych linii ewolucyjnych w rodzaju *Cypripedium*. Do analizy zegara molekularnego wykorzystałem sekwencję nrITS oraz połączone fragmenty chloroplastowego DNA. Według analiz, ostatni wspólny przodek *Cypripedium* pojawił się we wczesnym Eocenie. Kład sekcji *Irapeana* jest najstarszą linią filogenetyczną w obrębie rodzaju *Cypripedium*. Analizy wskazują, że trzy główne linie ewolucyjne rozeszły się po optimum klimatycznym środkowego eocenu (ok. 41 mln lat temu). Inne ważne procesy ewolucyjne miały miejsce w późnym oligocenie i wczesnym miocenie. W tym okresie doszło do licznych dywergencji w obrębie grup gatunków charakteryzujących się transkontynentalną dysjunkcją.

Dodatkowym atutem omawianej pracy są także zdjęcia mikromorfologiczne które uzyskałem w mikroskopie świetlnym i skaningowym mikroskopem elektronowym (SEM). Zdjęcia wykonałem przy współpracy z dr Agnieszką Kowalkowską (obecnie dr hab. Agnieszka Kowalkowska, prof. UG), która w ramach tej pracy dokonała także opisu wspomnianych zdjęć. Liczne zdjęcia wybranych gatunków z rodzaju *Cypripedium* oraz *Selenipedium aequinoctiale* Garay mogą stanowić materiał źródłowy do analizy porównawczej w momencie uzyskania drzewa filogenetycznego podrodziny Cypripedioideae na podstawie wielu markerów molekularnych.

Publikacja 4: **Taxonomic placement of *Paphiopedilum canhii* (Cypripedioideae; Orchidaceae) based on cytological, molecular and micromorphological evidence**

W 2009 roku na skalistym wapieniu w północnym Wietnamie odkryto nowy gatunek litofita z rodzaju *Paphiopedilum* Pfitzer. *Paphiopedilum canhii* Aver. & O. Gruss został opisany w 2010 roku przez Averyanova i Grussa (Averyanov 2010) na podstawie okazów z kolekcji pasjonata orchidei Chu Xuan Canha (Wietnam, Hanoi). Cechy morfologiczne, takie jak marmurkowe liście, jednokwiatowy kwiatostan i stosunek wielkości listków bocznych okółka wewnętrznego do listków okółka zewnętrznego (petal/sepal ratio), wskazywały na bliski związek tego gatunku z sekcją *Barbata* (Kraenzl.) V.A. Albert & Børge Pett. Jednakże Averyanov et al. (2010) zauważyli pewne cechy liści, staminodium, warzki i listków okółka wewnętrznego, które sugerowały pośrednią pozycję *P. canhii* między sekcjami *Barbata* i *Parvisepalum* Aver. & Crbb. W konsekwencji, postulowali opisanie nowej sekcji dla *P. canhii*. Następnie Braem i Gruss (2011) zaproponowali nowy podrodzaj *Megastaminodium* Braem & O. Gruss, dla tego gatunku. Wkrótce potem Averyanov (Averyanov et al. 2011) umieścił *P. canhii* w nowej monotypowej sekcji, *Pygmaea* Aver., w podrodzaju *Paphiopedilum*. Do momentu ukazania się mojej publikacji nie uzyskano sekwencji nukleotydowych do analiz filogenetycznych aby zweryfikować pozycję systematyczną nowo opisanego gatunku.

Podczas naukowej ekspedycji do Wietnamu w 2011 roku uzyskałem materiał z kolekcji C. X. Cahna który posłużył mi do izolacji i sekwencjonowania DNA. Byłem pierwszą osobą na świecie, która uzyskała sekwencje DNA tego nowo opisanego gatunku.

W niniejszej pracy używając metody parsymonii oraz analizę bayesowską oszacowałem relacje filogenetyczne w obrębie rodzaju *Paphiopedilum* wskazując także pozycję systematyczną problematycznego taksonu. Dodatkowo określiłem (przy współpracy z dr hab. Jerzym Bohdanowiczem, prof. UG) liczbę chromosomów ($2n=26$) oraz wykonałem zdjęcia struktur kwiatowych z mikroskopu świetlnego i SEM (współpracując z dr Agnieszką Kowalkowską). Określenie liczby chromosomów oraz cechy

mikromorfologiczne pozwoliły mi wykluczyć bliskie pokrewieństwo *P. canhii* z sekcją *Barbata* ($2n=28-46$).

W analizie filogenetycznej wykorzystałem gatunki reprezentujące wszystkie taksony wewnątrzrodzajowe *Paphiopedilum* oraz gatunki stanowiące grupę zewnętrzną. Do analizy wybrałem trzy markery chloroplastowe, nrITS oraz fragment jądrowego niskokopijnego genu *Xdh*. Była to pierwsza praca która w tak szerokiej skali gatunkowej wykorzystwała niskokopijny marker do analizy filogenetycznej rodzaju *Paphiopedilum*. Do momentu ukazania się mojej publikacji systematyka molekularna tego rodzaju opierała się wyłącznie o nrITS (Cox et al. 1997, Chochai et al. 2012) oraz fragmenty chloroplastowego DNA (Chochai et al. 2012).

Moje analizy, oparte na pięciu markerach molekularnych, są zgodne z wynikami opublikowanymi przez Chochai et al. (2012) w odniesieniu do relacji pomiędzy podrodzajami. Wszystkie trzy podrodzaje wyróżnione przez Cribba (1998), tj. *Parvisepalum*, *Brachypetalum* i *Paphiopedilum*, są dobrze wspierane w analizach chloroplastowego DNA i analizach łączonych. Z drugiej strony, żaden z markerów jądrowych (nrITS i *Xdh*) nie wspiera monofiletyczności powszechnie uznawanego podrodzaju *Paphiopedilum sensu* Cribb 1998. Brak tego wsparcia był zagadką, gdyż cechy morfologiczne (Cribb 1998) i analiza chloroplastowego DNA (Chochai et al. 2012, **publikacja 4**) jednoznacznie wspierały ten takson. Kolejna praca (Guo et al. 2015), w której przedstawiono drzewa filogenetyczne kolejnych czterech genów jądrowych nie rozwiązały tego problemu, ukazując konflikty między nimi. Hipotezę dotyczącą przyczyny konfliktu topologii jądrowych drzew filogenetycznych oraz braku wsparcia dla monofiletyczności podrodzaju *Paphiopedilum* przedstawiłem w **publikacji 5**.

Podsumowując wyniki, zarówno molekularne, jak i morfologiczne cechy, wskazały, że *P. canhii* powinien być umieszczony w oddzielnym taksonie. Izolowana pozycja *P. canhii* na jądrowych drzewach filogenetycznych przedstawionych w tym artykule w połączeniu z unikalnym zestawem cech morfologicznych, potwierdzają status odrębnego podrodzaju *Megastaminodium* w obrębie rodzaju *Paphiopedilum*. Dlatego też, w celu zachowania

monofiletyczności podrodzajów, wnioskowałem aby sekcje *sensu* Cribb (1998) z podrodzaju *Paphiopedilum* zostały podniesione do rangi podrodzaju.

Swoją pracą wskazałem na potrzebę użycia dodatkowych markerów molekularnych, spoza obszaru genomu chloroplastowego i nrITS, aby w pełni zrozumieć historię ewolucyjną badanych taksonów. Wybór niskokopijnego genu *Xdh* ukazał konflikty topologii drzew chloroplastowych i jądrowych wskazując na prawdopodobną hybrydyzację w obrębie podrodzaju *Paphiopedilum* oraz hybrydowe pochodzenie *P. canhii*. Kilka lat później Guo et al. (2021) wykazali bliskie pokrewieństwo genomu chloroplastowego *Paphiopedilum canhii* do sekcji wielokwiatowych (*Coryopedilum*, *Pardalopetalum* i *Cochlopetalum*) z podrodzaju *Paphiopedilum* uwiarygadniając moją hipotezę o hybrydowym pochodzeniu *P. canhii*.

Publikacja 5: **Species phylogeny versus gene trees: A case study of an incongruent data matrix based on *Paphiopedilum* Pfitz. (Orchidaceae)**

Klasyfikacja wewnątrzrodzajowa *Paphiopedilum* Pfitzer opiera się głównie na morfologii kwiatów i typach liści (Brieger et al. 1971, Karasawa & Saito 1982, Cribb 1998, Bream et al. 1998, Hennessy et al. 2000, Bream & Chiron 2003). Analizy chloroplastowego DNA (Chochai et al. 2012, **publikacja 4**) silnie wspierają tę klasyfikację która wyróżnia trzy podrodzaje: *Parvisepalum*, *Brachypetalum* i *Paphiopedilum*. Relacje między sekcjami w podrodzaju *Paphiopedilum* zostały również potwierdzone przez analizę plastydowego DNA (Chochai et al. 2012, **publikacja 4**) która ujawniła istnienie dwóch linii ewolucyjnych - jednej zawierającej gatunki jednokwiatowe (sekcje *Barbata* i *Paphiopedilum*) i drugiej zawierającej gatunki wielokwiatowe (tj. sekcje *Coryopedilum* - *Pardalopetalum* i *Cochlopetalum*). W obrębie tej ostatniej linii znajduje się również *P. canhii*, co zostało również potwierdzone przez analizę genomu chloroplastowego (Guo et al. 2021). Warto jednak zauważyć, że pozycja filogenetyczna analizowanych taksonów zrekonstruowana na podstawie genomów chloroplastowych nie jest wspierana przez niskokopijne geny jądrowe *Xdh* (**publikacja 4**), *Aco*, *Def4*, *Rad51*, *Lfy* (Guo et al. 2015)

oraz nrITS (Chochai et al. 2012, **publikacja 4**).

W omawianej pracy zaprojektowałem nowe startery do fragmentu niskokopijnego genu *PhyC*, którego analiza filogenetyczna potwierdziła podział podrodzaju *Paphiopedilum* na dwie wymienione wcześniej linie ewolucyjne (*P. canhii* nie był analizowany w tej pracy). Pomimo uzyskania zgodności topologii drzewa genu *PhyC* do drzewa plastydowego zastanawiałem się nad przyczyną niezgodności topologii drzew pozostałych markerów jądrowych.

W niniejszej pracy dokonałem ponownej analizy wszystkich wspomnianych markerów z pracy Guo et al. (2015) i Górniak et al. (2014) (**publikacja 4**), potwierdzając konflikty topologii. Analizy filogenetyczne dla wszystkich markerów przeprowadziłem z użyciem metody bayesowskiej w oparciu o teorię zegara molekularnego, stosując wtórne punkty kalibracyjne. Zauważyłem pewien wzór niezgodności/braku rozwiązania relacji filogenetycznych pomiędzy sekcjami oraz czasem dywergencji (tMRCA) podrodzaju *Paphiopedilum*. Topologia drzew genów *Aco* i *Def4* ukazywała nierozwiązane relacje (politomia) pomiędzy sekcjami, jednak silnie, tak jak analiza łączona markerów plastydowych wspierała podrodzaj *Paphiopedilum*. Także czas dywergencji podrodzaju *Paphiopedilum* był zgodny z analizą drzewa plastydowego.

Natomiast topologie pozostałych drzew filogenetycznych ukazywały różne relacje pomiędzy sekcjami, niezgodne jednak z koncepcją morfologiczną. Konflikt dotyczył „pozycji” sekcji *Barbata* (*Xdh*), *Cochlopetalum* (*Rad51*) oraz *Barbata* i *Cochlopetalum* (*Lfy*). Warto zauważyć, że obie te sekcje mają wyższą niż podstawowa (plezjomorficzna) liczbę chromosomów. We wcześniejszych pracach wykazano, że przyczyną większej liczby chromosomów był ich rozpad (Karasawa & Saito 1982). Dodatkowo cechą wspólną wspomnianych drzew filogenetycznych był brak wsparcia dla podrodzaju *Paphiopedilum*. Założyłem, że brak wsparcia dla podrodzaju *Paphiopedilum* w analizie markerów *Xdh*, *Lfy*, *Rad51*, *PhyC* może być spowodowany słabym sygnałem filogenetycznym. Postanowiłem więc wykonać analizę filogenetyczną łącząc te matryce uzyskując w ten sposób wsparcie dla kladu podrodzaju *Paphiopedilum*.

Bardzo ciekawym wynikiem tej analizy (analiza matrycy łączonej *Xdh*, *Lfy*, *Rad51*, *PhyC*) było także to, że topologia uzyskanego drzewa, w odniesieniu do relacji pomiędzy sekcjami była identyczna jak topologia drzewa genu *Lfy*. Wynik ten potwierdza, że łączenie matryc posiadających skonfliktowany sygnał filogenetyczny jest niewłaściwe i może doprowadzić do zafałszowania historii ewolucyjnej badanych taksonów. Łącząc te matryce, miałem świadomość tego błędu, natomiast dążyłem do wzmocnienia sygnału który nie był w konflikcie (klad podrodzaju *Paphiopedilum*).

To co także zwróciło moją uwagę w tych analizach, to znaczna różnica w oszacowaniu czasu dywergencji podrodzaju *Paphiopedilum* (tMRCA) na podstawie łączonych markerów *Xdh*, *Lfy*, *PhyC* w porównaniu z analizą łączoną markerów *Aco/Def4* oraz drzewa chloroplastowego. Był to dla mnie moment w którym zobaczyłem poukładane wszystkie puzzle.

Na podstawie analizy wszystkich skonfliktowanych topologii drzew filogenetycznych postawiłem hipotezę, że konflikty te spowodowane są ancestralną hybrydyzacją, która miała miejsce u przodka podrodzaju *Paphiopedilum* i poprzedzała zróżnicowanie na sekcje w tym podrodzaju. Hipoteza ta jednocześnie wyjaśniała konflikt pomiędzy sekcjami w genach jądrowych oraz zgodność analizy przekazywanego matecznie chloroplastowego DNA z analizą cech morfologicznych. Konflikt genów jądrowych oparłem na procesach wynikających bezpośrednio z hybrydyzacji (Stebbins 1957, Grant 1958, Buerkle et al. 2000, Folk et al. 2018).

Stwierdziłem, że węzły na drzewach filogenetycznych dla podrodzaju *Paphiopedilum* w omawianych analizach dotyczyły odpowiednio proto – *Paphiopedilum* (sprzed hybrydyzacji - drzewa *Xdh*, *Lfy*, *Rad51*, *PhyC*) i *Paphiopedilum* (po hybrydyzacji – drzewa *Aco*, *Def4* i drzewo chloroplastowe). Do przetestowania mojej hipotezy dodatkowo wykorzystałem program Phylonet (Than et al. 2008), który na podstawie skonfliktowanych topologii drzew filogenetycznych (nie matryc), które uzyskałem w niniejszej pracy potwierdził hybrydyzację ancestralną jako najbardziej prawdopodobną przyczynę niezgodności topologii drzew filogenetycznych.

Podsumowanie

Rekonstrukcja filogenezy Orchidaceae w oparciu o niskokopijne markery jądrowe rozwiązała wiele problemów taksonomicznych na każdym z badanych poziomów. Wykazałem, że zmienność badanych markerów przy zastosowaniu właściwej analizy uwzględniającej możliwe drogi ewolucji jest odpowiednia do analizy zarówno na poziomie rodziny jak i rodzaju. W szczególności zwróciłem uwagę na możliwość wykorzystania tych markerów do detekcji zarówno hybrydyzacji młodych mieszańców, jak i hybrydyzacji ancestralnej. Wskazałem także drogę analizy danych molekularnych, które mają sprzeczne sygnały filogenetyczne. Pomimo konfliktu topologii drzew filogenetycznych przy wsparciu cech morfologicznych oraz analizie matecznie przekazywanych markerów opisałem historię ewolucyjną badanego taksonu.

Literatura

- Averyanov, L.V., 2010. *Paphiopedilum canhii*. Orch. Viet. III. Surv. Orchidoideae, Turczaninowia 13, 92.
- Averyanov, L.V., Gruss, O., Canh, C.X., Loc, P.K., Dang, B., Hiep, N.T., 2010. *Paphiopedilum canhii* – a new species from Northern Vietnam. Orchids 79, 288–290.
- Averyanov, L.V., Pham, V.T., Loc, P.K., Hiep, N.T., Canh, C.X., Vinh, N.T., Hieu, N.Q., 2011. Planet. Orchid. 24, 20
- Bateman RM, Farrington OS. 1987. A morphometric study of *x Orchiaceras bergonii* (Nanteuil) Camus and its parents (*Aceras anthropophorum* (L.) Aiton f. and *Orchis simia* Lamarck) in Kent. *Watsonia* 16:397-407
- Bateman RM, Hollingsworth PM. 2004. Morphological and molecular investigation of the parentage and maternity of *Anacamptis albuferensis* (*A. fragrans* × *A. robusta*), a new hybrid orchid from Mallorca, Spain. *Taxon* 53:43-54
- Bateman RM, Smith RJ, Fay MF. 2008. Morphometric and population genetic analyses elucidate the origin, evolutionary significance and conservation implications of *Orchis* × *angusticruris* (*O. purpurea* × *O. simia*), a hybrid orchid new to Britain.

- Botanical Journal of the Linnean Society 157:687-711
- Braem, G.J., Gruss, O., 2011. *Paphiopedilum* subgenus *Megastaminodium* Braem & Gruss, a new subgenus to accommodate *Paphiopedilum canhii*. *Orchid Dig.* 3, 164.
- Braem, G.J.; Baker, C.O.; Baker, M.L. *The Genus Paphiopedilum—Natural History and Cultivation*; Botanical Publishers: Kissimmee, FL, USA, 1998; Volume 2.
- Braem, G.J.; Chiron, G. *Paphiopedilum*; *Tropicalia*: Lyon, France, 2003.
- Brandrud MK, Paun O, Lorenz R, Baar J, Hedrén M. Restriction-site associated DNA sequencing supports a sister group relationship of *Nigritella* and *Gymnadenia* (Orchidaceae). *Mol. Phyl. Evol.* 2019 Jul;136:21-28
- Brieger, F.G.; Maatsch, R.; Senghas, R. Unterfamilie: *Cypripedioideae* in *Die Orchideen*; Schlechter, R., Ed.; Paul Parey: Berlin, Germany, 1971; pp. 161–185.
- Buerkle, A.; Morris, R.J.; Asmussen, M.A.; Rieseberg, L. The likelihood of homoploid hybrid speciation. *Heredity* 2000, 84, 441–451.
- Burns-Balogh, P., Funk, V.A., 1986. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae. *Smithsonian Contrib. Bot.* 61.
- Cameron, K.M., 2004. Utility of plastid *psaB* gene sequences for investigating intrafamilial relationships within Orchidaceae. *Mol. Phyl. Evol.* 31, 1157–1180.
- Cameron, K.M., Chase, M.W., 2000. rDNA sequences of Orchidaceae confirm the subfamilial status and circumscription of *Vanilloideae*. In: Wilson, K.L. 784–795 Morrison (Eds.), *Monocots: Systematics and Evolution* 18. CSIRO, Collingwood, Victoria, pp. 457–464.
- Cameron, K.M., Chase, M.W., Whitten, W.M., Kores, P.J., Jarrell, D.C., Albert, V.A., Yukawa, T., Hills, H.G., Goldman, D.H., 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from *rbcl* nucleotide sequences. *Am. J. Bot.* 86, 208–224.
- Chase, M.W., Cameron, K.M., Barrett, R.L., Freudenstein, J.V., 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. In: Dixon, K.M., Kell, S.P., Barrett, R.L., Cribb, P.J. (Eds.), *Orchid Conservation. Natural History Publications*, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia, pp. 69–89.
- Chase, M.W., Cameron, K.M., Hills, H., Jarrell, D., 1994. DNA sequences and phylogenetics of the Orchidaceae and other lilioid monocots. In: Pridgeon, A. (Ed.), *Proceedings of the Fourteenth World Orchid Conference. Her Majesty's Stationery Office*, Glasgow, UK, pp. 61–73.
- Chen S-C, Liu Z-J, Chen L-J, Li L-Q. 2013. *The genus Cypripedium in China*. Peking: Science Press.
- Chochai, A., Leitch, I.J., Ingrouille, M.J., Fay, M.F., 2012. Molecular phylogenetics of *Paphiopedilum* (*Cypripedioideae*; Orchidaceae) based on nuclear ribosomal ITS and plastid sequences. *Bot. J. Linn. Soc.* 170, 176–196.
- Chochai, A.; Leitch, I.J.; Ingrouille, M.J.; Fay, M.F. Molecular phylogenetics of *Paphiopedilum* (*Cypripedioideae*; Orchidaceae) based on nuclear ribosomal ITS and plastid sequences. *Bot. J. Linn. Soc.* 2012, 170, 176–196.
- Cox, A.V., Pridgeon, A.M., Albert, V.A., Chase, M.W., 1997. Phylogenetics of the slipper

- orchids (Cypripedioideae, Orchidaceae): nuclear rDNA ITS sequences. *Pl. Syst. Evol.* 208, 197–223.
- Cribb P. 1997. The genus *Cypripedium*. Portland: Timber Press.
- Cribb, P.J. The Genus *Paphiopedilum*, 2nd ed.; Natural History Publications (Borneo) in association with Royal Botanic Gardens; Kew: Kota Kinabalu, Malaysia, 1998.
- Cribb, P.J., 1998. The genus *Paphiopedilum*, second ed. Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabalu, Sabah.
- Dressler, R.L., 1981. The Orchids: Natural History and Classification. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Dressler, R.L., 1993. Phylogeny and Classification of the Orchid Family. Timber Press, Portland, Oregon, USA
- Eccarius W. 2009. Die Orchideengattung *Cypripedium*, Phylogenie, Taxonomie, Morphologie, Biologie, Verbreitung, Oekologie und Hybridisation. Burgel Echino: Media.
- Folk, R.A., Soltis, P.S., Soltis, D.E., Guralnick, R. New prospects in the detection and comparative analysis of hybridization in the tree of life. *Am. J. Bot.* 2018, 105, 364–375.
- Freudenstein, J.V., Chase, M.W., 2001. Analysis of mitochondrial nad1b-c intron sequences in Orchidaceae: utility and coding of length-change characters. *Syst. Bot.* 26, 643–657.
- Freudenstein, J.V., van den Berg, C., Goldman, D.H., Kores, P.J., Molvray, M., Chase, M.W., 2004. An expanded plastid DNA phylogenetic analysis of Orchidaceae and analysis of jackknife clade support strategy. *Am. J. Bot.* 91, 149–157.
- Górniak, M. Klasyfikacja rzędu Orchidales w świetle analizy wybranych fragmentów DNA. Paca doktorska. 2007. Uniwersytet Gdański
- Górniak, M., Paun, O., Chase, M.W., 2010. Phylogenetic relationships within Orchidaceae based on a low-copy nuclear coding gene, *Xdh*: congruence with organellar and nuclear ribosomal DNA results. *Mol. Phyl. Evol.* 56, 784–795.
- Górniak, M., Szlachetko, D.L., Kowalkowska, A.K., Bohdanowicz, J., Canh, C.X. Taxonomic placement of *Paphiopedilum canhii* (Cypripedioideae; Orchidaceae) based on cytological, molecular and micromorphological evidence. *Mol. Phyl. Evol.* 2014, 70, 429–441.
- Górniak, M., Szlachetko, D.L., Olędrzyńska, N., Naczka, A.M., Mieszkowska, A., Boss, L., Ziętara, M.S. Species Phylogeny versus Gene Trees: A Case Study of an Incongruent Data Matrix Based on *Paphiopedilum* Pfitz. (Orchidaceae). *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 11393.
- Grant, V. The Regulation of Recombination in Plants. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1958, 23, 337–363.
- Guo, Y.-Y., Luo, Y.-B., Liu, Z.-J., Wang, X.-Q. Reticulate evolution and sea-level fluctuations together drove species diversification of slipper orchids (*Paphiopedilum*) in South-East Asia. *Mol. Ecol.* 2015, 24, 2838–2855.
- Guo YY, Yang JX, Bai MZ, Zhang GQ, Liu ZJ. The chloroplast genome evolution of Venus

- slipper (*Paphiopedilum*): IR expansion, SSC contraction, and highly rearranged SSC regions. *BMC Plant Biol.* 2021 May 31;21(1):248.
- Guo, Y.-Y., Luo, Y.-B., Liu, Z.-J., Wang, X.-Q. Evolution and Biogeography of the Slipper Orchids: Eocene Vicariance of the Conduplicate Genera in the Old and New World Tropics. *PLoS ONE* 2012, 7, e38788.
- Hennessy, E.F., Cribb, P., Mathew, B. The Genus *Paphiopedilum*. *Kew Bull.* 2000, 55, 249.
- Hernandez PA, Graham CH, Master LL, Albert DL. 2006. The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. *Ecography* 29:773-785
- Karasawa, K., Saito, K. A revision of the genus *Paphiopedilum* (Orchidaceae). *Bull. Hiroshima Bot. Gard.* 1982, 5, 1–69.
- Li J-H, Liu Z-J, Salazar GA, Bernhardt P, Perner H, Tomohisa Y, Jin X-H, Chung SW, Luo Y-B. 2011. Molecular phylogeny of *Cypripedium* (Orchidaceae: Cypripedioideae) inferred from multiple nuclear and chloroplast regions. *Mol. Phyl. Evol.* 61(2):308–320.
- Liu Z–J, Cribb PJ, Lou Y–B. 2012. *Cypripedium* section *Californica*, a new section of *Cypripedium* (Orchidaceae). *J Fairylake Bot Garden.* 11(1):4.
- Nuebig, K.M., Whitten, W.M., Carlsward, B.S., Blanco, M.A., Endara, L., Williams, N.H., Moore, M., 2009. Phylogenetic utility of *ycf1* in orchids: a plastid gene more variable than *matK*. *Plant Syst. Evol.* 277, 75–84.
- Pérez-Escobar, O.A., Dodsworth, S., Bogarín, D., Bellot, S., Balbuena, J.A., Schley, R.J., Kikuchi, I.A., Morris, S.K., Epiawalage, N., Cowan, R. et al. Hundreds of nuclear and plastid loci yield novel insights into orchid relationships. *Am. J. Bot.* 2021, 108, 1166–1180.
- Perner H. 2008. *Sinopedilum* – a new section of the genus *Cypripedium*. *Die Orchidee.* 59:35–51.
- Rasmussen, F.N., 1985. Orchids. In: Dahlgren, R., Clifford, H.T., Yeo, P.F. (Eds.), *The Families of the Monocotyledones – Structure, Evolution and Taxonomy*. Springer Verlag, Berlin, pp. 249–274.
- Rieseberg LH. 1997. Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28:359-389
- Stebbins, G.L. The hybrid origin of microspecies in the *Elymus glaucus* complex. *Cytologia* 1957, 36, 336–340.
- Szlachetko, D.L., 1995. *Systema orchidalium*. *Fragm. Flor. Geobot. Polonica* 3, 1–152.
- Than, C., Ruths, D.A., Nakhleh, L. *PhyloNet*: A software package for analyzing and reconstructing reticulate evolutionary relationships. *BMC Bioinform.* 2008, 9, 322.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Kompletna lista moich osiągnięć naukowych została przedstawiona w załączniku 4 - „Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny”. Poniżej prezentuję przegląd mojej aktywności naukowej.

Swoją pracę magisterską wykonywałem w międzykatedralnym zespole molekularno-taksonomicznym, będącym owocem współpracy pomiędzy Katedrą Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody, której kierownikiem był prof. dr hab. Dariusz L. Szlachetko a Katedrą Biologii Molekularnej kierowaną przez prof. dr. hab. Grzegorza Węgrzyna. Po ukończeniu studiów w roku 2001, zostałem słuchaczem Środowiskowego Studium Doktoranckiego Uniwersytetu Gdańskiego. Moim promotorem został prof. dr hab. Dariusz L. Szlachetko, który powierzył mi zadanie stworzenia Laboratorium Taksonomii Molekularnej w swojej macierzystej katedrze. Moim zadaniem było wprowadzenie technik biologii molekularnej (PCR, sekwencjonowanie DNA) i wykorzystanie ich w pracach taksonomicznych. Aby móc zrealizować to zadanie odbyłem krótkoterminowy staż w Katedrze Systematyki Roślin i Geografii Uniwersytetu Warszawskiego, gdzie zapoznałem się z procedurami prowadzącymi do uzyskania sekwencji ITS1-5.8S-ITS2 rybosomowego rDNA metodą Sangera. Przez kolejne lata studiów doktoranckich wdrażałem te techniki będąc także opiekunem „molekularnym” magistrantów i doktorantów KTRiOP. W roku 2003 odbyłem staż w University of Copenhagen (Dania) finansowany przez Copenhagen Biosystematics Centre COBICE w ramach europejskiego programu stypendialnego „Improving Human Potential”. Staż ten skoncentrowany był na technikach molekularnych i analizie danych sekwencyjnych. Podczas stażu uczestniczyłem w seminariach naukowych oraz nieformalnych spotkaniach, które przygotowały mnie na trudności jakie miałem napotkać podczas prac laboratoryjnych oraz analizie danych sekwencyjnych. Staż ten otwo-

rzył przede mną perspektywę wykorzystania sekwencji plastydowych w systematyce roślin. Zwrócono tam moją uwagę na możliwość wykorzystania genu *matK* jako weryfikacji/alternatywy dla regionu ITS1-5.8S-ITS2 w systematyce roślin. Uzyskane w ramach stażu sekwencje DNA oraz doświadczenie wykorzystałem w publikacji **Górniak, M.**, Mytnik-Ejsmont, J., Rutkowski, P., Tukałło, P., Minasiewicz, J., & Szlachetko, D. L. (2006). Phylogenetic relationships within the subtribe Spiranthinae sl (Orchidaceae) inferred from the nuclear ITS region. *Biodiversity: Research and Conservation*, (1–2), 18–24 oraz Kułak, M., **Górniak, M.**, & Romowicz, A. (2006). Tribal and subtribal relationship of Epidendroideae Lindl.(Orchidaceae) with emphasis on Epidendreae Humb., Bonpl. & Kunth based on *matK* gene. *Biodiversity: Research and Conservation*, (3–4), 205–209. Kolejnym ważnym etapem w mojej karierze naukowej było wystąpienie z referatem Molekulartaxonomie versus Orchideenklassifikation. Dresdner Orchideen-Welt w Dreźnie w 2004. Referat dotyczył niezgodności systematyki molekularnej opartej o fragment ITS1-5.8S-ITS2 a cechami morfologicznymi w rodzaju *Paphiopedilum*. Wtedy jeszcze nie wiedziałem, że rozwiążę ten konflikt w dalszej przyszłości (**publikacja 5**).

Mając świadomość, że stolica systematyki molekularnej rodziny Orchidaceae znajduje się w Laboratorium Jodrella w Kew Gardens w Londynie nawiązałem kontakt z prof. M. W. Chasem, ówczesnym szefem laboratorium molekularnego. W ramach europejskiego programu BioMoBil odbyłem w latach 2005-2006 trzy staże naukowe w Laboratorium Jodrella. Celem mojej pierwszej wizyty było zapoznanie się z technikami izolacji DNA i sposobie długoterminowego przechowywania tego materiału do celów badawczych (tzw. Bank DNA). Drugi mój wyjazd skoncentrowany był na wykorzystaniu techniki klonowania DNA w celu uzyskania homogennych produktów do sekwencjonowania DNA. Z kolei trzeci wyjazd dotyczył zapoznania się z etapami pracy już po uzyskaniu danych sekwencyjnych. Głównie dotyczyło to składania sekwencji DNA (tworzenie kontigów sekwencji), szeregowania DNA, określenia modeli ewolucji DNA oraz metod konstrukcji drzew filogenetycznych.

Moje pobyty w Laboratorium Jodrella zaopatrzyły mnie w warsztat taksonoma molekularnego, który wykorzystałem podczas analizy danych i pisania mojej rozprawy doktorskiej. Umożliwiły mi także poznanie środowiska naukowego współpracującego z Laboratorium Jodrella w Kew Gardens. Zachęcony do dalszej współpracy poprosiłem prof. M.W Chase'a o zostanie moim opiekunem naukowym w ramach programu Synthesis. Po otrzymaniu finansowania (grant nr GB-TAF-4470) odbyłem kolejny staż w Laboratorium Jodrella. Efektem naukowym było opublikowanie w 2010 roku pierwszej pracy dotyczącej filogenezy rodziny Orchidaceae w oparciu o sekwencje jądrowe (niskokopijny gen *Xdh*) (**publikacja 1**).

W 2011 roku w ramach kierowanego przez mnie projektu badawczego finansowanego przez MNiSW zorganizowałem ekspedycję naukową do Wietnamu. Celem wyjazdu było poszukiwanie rzadkich/nowych gatunków z rodzaju *Paphiopedilum*. Podczas wyjazdu nawiązałem także współpracę z kolekcjonerem storczyków Chu Xuan Canh'em. Pan Canh był w posiadaniu jednego z najcenniejszych dla nauki gatunków z tego rodzaju. Gatunek ten został opisany na jego cześć w roku 2010 (*P. canhii*). Efektem naukowym mojego wyjazdu jest **publikacja 2**.

W 2011 na prośbę ówczesnego (jak i obecnego) dziekana Wydziału Biologii prof. dr. hab. Dariusza L. Szlachetko dołączyłem do zespołu naukowego w nowopowstałej Katedrze Ewolucji Molekularnej, której kierownikiem został prof. dr hab. Marek S. Ziętara. Ze względu na nowe obowiązki organizacyjno/dydaktyczne swoją aktywność naukową ograniczyłem do jednostki macierzystej. W chwili obecnej po ponownej zmianie katedry w 2022 jest to Pracownia Ewolucji Molekularnej i Bioinformatyki w Katedrze Genetyki Ewolucyjnej i Biosystematyki.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1 Osiągnięcia dydaktyczne

Zajęcia dydaktyczne realizowałem od początku podjęcia pracy na etacie adiunkta. Prowadzone były w różnorodnych formach - ćwiczenia, wykłady, pracownie, seminaria w ramach kilku różnych kierunków studiów I i II stopnia na Wydziale Biologii (kierunki: Biologia, Biologia medyczna, Genetyka i biologia eksperymentalna) oraz na innych wydziałach – Wydziale Matematyki i Fizyki oraz Wydziale Prawa i Administracji. W ramach zajęć dydaktycznych opracowałem autorskie programy do ćwiczeń *Wstępu do bioinformatyki*, *Drzewa życia* oraz także materiałów do zajęć online oraz instrukcji do ćwiczeń. Ważnym elementem mojej dydaktyki jest udział w kształceniu kadr, który realizuję poprzez opiekę nad pracami dyplomowymi, oraz funkcję promotora pomocniczego. Poniżej przedstawiam wykaz wybranych osiągnięć dydaktycznych:

Przygotowanie i prowadzenie zajęć

1. *Naukowe sposoby badania śladów przestępstw metodami biologicznymi* – część wykładu i ćwiczenia dla studentów II stopnia (2 rok) Wydziału Prawa i Administracji (kierunek Kryminologia)
2. *Ujawnianie śladów i dowodów przestępstw* – część wykładu dla studentów II stopnia (1 rok) Wydziału Prawa i Administracji (kierunek Kryminologia)
3. *Bioróżnorodność i taksonomia* – ćwiczenia dla studentów I stopnia (1 rok) Wydziału Matematyki i Fizyki (kierunek Bioinformatyka)
4. *Taksonomia i filogenetyka molekularna* – ćwiczenia dla studentów I stopnia (3 rok) Wydziału Matematyki i Fizyki (kierunek Bioinformatyka)
5. *Drzewo życia* - ćwiczenia dla studentów I stopnia (3 rok) Wydziału Matematyki i Fizyki (kierunek Bioinformatyka)
6. *Podstawy biologii* – wykład i ćwiczenia dla studentów I stopnia (1 rok) Wydziału Biologii (kierunek Biologia medyczna)
7. *Wstęp do bioinformatyki* - ćwiczenia dla studentów I stopnia (3 rok) Wydziału Biologii (kierunek Biologia medyczna, Genetyka i biologia eksperymentalna)
8. *Bioinformatyka w diagnostyce* - ćwiczenia dla studentów I stopnia (3 rok) Wydziału Biologii (kierunek Genetyka i biologia eksperymentalna)
9. *Bioinformatyka dla biologów* - ćwiczenia dla studentów 3 roku Wydziału Biologii (kierunek Biologia)

10. *Metody molekularne w identyfikacji gatunków* – część wykładu dla studentów I stopnia (2 rok) Wydziału Biologii (kierunek Ochrona zasobów przyrodniczych)

Opieka naukowa nad studentami:

Promotor 11 prac licencjackich (2015–2020), Uniwersytet Gdański, kierunki studiów: Biologia, Biologia medyczna, Bioinformatyka

1. Damian Brodzik - Badanie zależności filogenetycznych w obrębie rodziny Orchidaceae, ze szczególnym uwzględnieniem podrodziny Epidendroideae, w oparciu o marker jądrowy oraz plastydowy, w odniesieniu do koncepcji zegara molekularnego
2. Zielonka Sebastian - Pozycja systematyczna *Paphiopedilum rungsuriyanum* O. Gruss, Rungruang, Chaisur & Dionisio sp. nov
3. Wirkus Marta- Wpływ grupy zewnętrznej na topologię drzewa podrodziny Cypripedioideae
4. Szczepaniak Bogna - Ewolucja genu maturazy K u Orchidaceae
5. Gos Izabela - Przyciąganie długich gałęzi a adaptacja morfologiczna do zapylaczy na przykładzie *Lankesterella* Ames i *Eurystyles* Wawra
6. Chomik Aleksandra Relacje filogenetyczne w obrębie rodzaju *Paphiopedilum* (Pfitzer) na podstawie markerów jądrowych oraz markera plastydowego w oparciu o zegar molekularny
7. Marcin Bianek - Ewolucja plastydowych genów tRNA w rodzinie Orchidaceae
8. Kubić Karolina - Ewolucja molekularna i analiza zmienności sekwencji kodujących białko gp120 wirusa HIV-1
9. Agnieszka Bilak - Analiza zmienności i ewolucja molekularna genu *env* wirusa HIV-1 pod wpływem działania szczepionki DNA/rAd5
10. Marlena Rozwadowska - Analiza rearanzacji genomu mitochondrialnego wybranych przedstawicieli Nematoda
11. Aleksandra Zalewska - Pozycja filogenetyczna i ewolucja molekularna wirusa SARS-CoV-2 na podstawie sekwencji genu i białka S

Promotor 14 prac magisterskich (2009–2022), Uniwersytet Gdański, kierunki studiów: Biologia, Biologia medyczna

1. Krajewski Piotr Analiza filogenetyczna rodzaju *Oncidium* na tle przedstawicieli podplemienia Oncidinae (Orchidaceae)

2. Kuźniarska Joanna Analiza filogenetyczna rodzaju *Bulbophyllum* na tle przedstawicieli podplemienia Bulbophyllinae (Orchidaceae)
3. Reclaw Andrzej Relacje filogenetyczne w obrębie rodzaju *Paphiopedilum* Pfitzer na podstawie analizy sekwencji mitochondrialnego intronu *nad1*
4. Leszczyński Maciej Relacje filogenetyczne w obrębie rodzaju *Paphiopedilum* Pfitzer na podstawie analizy sekwencji jądrowego genu *Xdh*
5. Katarzyna Lange, Adrianna Lubińska Relacje filogenetyczne w obrębie rodzaju *Paphiopedilum* Pfitzer na podstawie analizy jądrowej sekwencji ITS i chloroplastowego genu *matK*
6. Koliński Tomasz Pozycja systematyczna rodzaju *Vargasiella* C. Schweinf. (Orchidaceae) w świetle analizy sekwencji DNA
7. Katarzyna Mystkowska Kod kreskowy DNA chronionych roślin naczyniowych na terenie województwa pomorskiego
8. Uraśńska Barbara Zastosowanie chloroplastowego genu *matK* jako kodu kreskowego DNA dla chronionych roślin naczyniowych na terenie Pomorza Gdańskiego
9. Natalia Olędrzyńska Relacje filogenetyczne w obrębie rodzaju *Paphiopedilum* Pfitzer w kontekście ewolucji siateczkowatej
10. Damian Brodzik Analiza sekwencji mitochondrialnego genomu hybrydy *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea, Gyrodactylidae)
11. Sebastian Zielonka Pozycja systematyczna *Paphiopedilum fairrieanum* (Lindley) Stein (Orchidaceae, Cypripedioideae)
12. Smętek Joanna Ocena zmian metylacji DNA w hodowli *in vitro* w zależności od sposobu rozmnażania
13. Kubić Karolina Analiza zmienności i ewolucja molekularna podtypu B wirusa HIV-1 na podstawie genu *env*
14. Zalewska Aleksandra Pozycja filogenetyczna, analiza porównawcza genomów oraz właściwości lityczne dwóch bakteriofagów zakażających *Pseudomonas aeruginosa*: vB_Pae575P-3 i vB_Pae1369P-5

Promotor pomocniczy w przewodach doktorskich (otwartych)

1. mgr Iwona Skorowska - Filogeneza i taksonomia Oncidiinae (Orchidaceae) na obszarze Wyżyny Gujańskiej. (*ang. Phylogeny and taxonomy of Oncidiinae (Orchidaceae) in the Guyana Upland*)

2. mgr Aleksandra Zalewska - Zjawisko rekombinacji u bakteriofagów i jego znaczenie na przykładzie wirusów zakażających *Pseudomonas aeruginosa* – badania mikrobiologiczne, molekularne i filogenetyczne

6.2 Działalność w zakresie popularyzacji nauki

Brałem także aktywny udział w realizacji programów popularyzatorskich i edukacyjnych Wydziału Biologii promujących wiedzę biologiczną: „Zaproś naukowca do szkoły” oraz „Poznaj pracę Biologa”. Aktywność tą realizowałem poprzez autorskie warsztaty pt.: „Od liścia do drzewa filogenetycznego”. W ramach prezentacji tematyki badań prowadzonych w Katedrze Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody i w Katedrze Ewolucji Molekularnej przygotowywałem spotkania z młodzieżą i dorosłymi w ramach Bałtyckiego Festiwalu Nauki, „Nocy Biologów” oraz dni otwartych na Wydziale Biologii UG.

6.3 Działalność organizacyjna

Swoją umiejętność organizacyjną wykorzystałem jako współorganizator Bałtyckiego Festiwalu Nauki na Wydziale Biologii (IX, X, XI edycja) oraz Letniej Szkoły Taksonomii na Wydziale Biologii UG (18-20 września 2013). Jako osobisty sukces uważam przygotowanie i współtworzenie Laboratorium Taksonomii Molekularnej w Katedrze Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody WB. Jako reprezentant adiunktów jestem także zaangażowany w pracę gremiów organizujących działalność Wydziału Biologii (członek Rady Wydziału Biologii – kadencja 2021 do chwili obecnej) oraz w działalność na rzecz organizacji dydaktyki na Wydziale Biologii UG (członek rady kierunku Biologia medyczna, kadencja 2016-2020, 2021-obecnie), członek/wiceprzewodniczący rady kierunku Genetyka i biologia eksperymentalna, 2023-obecnie).

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

7.1 Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo–badawczych

7.1.1 Wkład w badania systematyki rodziny Orchidaceae oraz identyfikację molekularną roślin

Ze względu na możliwość pracy w zespole naukowym prof. dr. hab. Dariusza L. Szlachetko miałem dostęp do bardzo wielu rzadkich gatunków z rodziny Orchidaceae. Zarówno podczas doktoratu jak i po uzyskaniu stopnia doktora moją rolą w zespole Profesora były prace laboratoryjne służące uzyskaniu danych sekwencyjnych oraz ich analiza w ujęciu filogenetycznym. Efektem tej współpracy jest 10 artykułów naukowych oraz dwie monografie których jestem współautorem. Wskazane prace dotyczą pozycji systematycznej/filogenezy różnych gatunków/grup systematycznych rodziny Orchidaceae (załącznik 4). Dodatkowo także zaangażowany byłem w prace związane z alfa taksonomią. Jestem współautorem monografii dotyczącej storczyków afrykańskich (Szlachetko, D. L., Mytnik-Ejsmont, J., Kras, M., Rutkowski, P., Baranow, P., & **Górniak, M.** (2010). *Orchidaceae of West-Central Africa*. Gdańsk University Press.) oraz sześciu nowych rodzajów dla nauki: *Ceratopetalorchis* Szlach., **Górniak** & Tukałło, *Richardiana* 3(4): 158 (2003), *Andinorchis* Szlach., Mytnik & **Górniak**, *Polish Bot. J.* 51(1): 31 (-32) (2006), *Brassiopsis* Szlach. & **Górniak**, *Biodivers. Res. Conservation* 1-2: 12 (2006), *Christensonella* Szlach., Mytnik, **Górniak** & Śmiszek, *Polish Bot. J.* 51(1): 57 (-58) (2006), *Irenea* Szlach., Mytnik, **Górniak** & Romowicz, *Biodivers. Res. Conservation* 1-2: 5 (2006), *Siederella* Szlach., Mytnik, **Górniak** & Romowicz, *Biodivers. Res. Conservation* 1-2: 4 (-5) (2006) które łącznie obejmują ponad 60 nowych kombinacji gatunków.

Dodatkowo zaangażowany jestem w prace w nurcie genetyki konserwatorskiej, które związane są z analizą zmienności na poziomie gatunkowym. Przy projektach tych współpracowałem z dr Aleksandrą Naczk i dr Julitą Minasiewicz publikując w tak

renomowanych czasopismach jak *Botanical Journal of the Linnean Society* oraz *Conservation Genetics*. Zdobyte doświadczenie w pracy z mikrosatelitarnym DNA wykorzystałem przy molekularnej identyfikacji czystych linii *Boechera stricta* (Brassicaceae) współpracując z dr Joanną Rojek (Rojek, J., Kapusta, M., Koziernicka-Kiszkurno, M., Majcher, D., **Górniak, M.**, Sliwiska, E., Sharbel, T. F., & Bohdanowicz, J. (2018). *Establishing the cell biology of apomictic reproduction in diploid Boechera stricta* (Brassicaceae). *Annals of Botany*, 122(4), 513–539).

Oprócz współpracy wewnątrz macierzystej jednostki współpracuję także w ramach realizacji projektów badawczych, do których zapraszany jestem jako ekspert. Między innymi nawiązałem współpracę z dr hab. Anną Jakubską-Busse (obecnie kierownik Zakładu Botaniki Uniwersytetu Wrocławskiego), której owocem są publikacje: Jakubská-Busse, A., Proćków, J., **Górniak, M.**, & Gola, E. M. (2012). Is *Epipactis pseudopurpurata* distinct from *E. purpurata* (Orchidaceae)? Evidence from morphology, anatomy, DNA and pollination biology. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 170(2), 243–256; Jakubská-Busse, A., Żołąbak, E., **Górniak, M.**, Łobas, Z., Tsiftsis, S., & Steiu, C. (2020). A Revision of the Taxonomy and Identification of *Epipactis greuteri* (Orchidaceae, Neottieae). *Plants*, 9(6), 783; **Górniak, M.**, Jakubská-Busse, A., & Ziętara, M. S. (2021). Genetic history of the remnant population of the rare orchid *Cypripedium calceolus* based on plastid and nuclear rDNA. *Genes*, 12(6), 940. W roku 2022 zostałem zaproszony do współpracy przez dr Yan-Yan Guo z Henan Agricultural University (Chiny) przy analizie wyników z sekwencjonowania genomu chloroplastowego *Selenipedium aequinoctiale* (Cypripedioideae), którego pozycja systematyczna jest niewyjaśniona.

Kolejnym ważnym etapem w mojej pracy naukowej było stworzenie zespołu taksonomiczno-molekularnego do realizacji projektu związanego z identyfikacją molekularną roślin (Barcoding DNA). Wykonawcami projektu związanymi ze zbiorem i identyfikacją roślin były dr Magdalena Lazarus, dr Marta Kolanowska oraz mgr Aleksandra Naczk. W projekt ten zostali także zaangażowani studenci Koła naukowego „Zioło” znajdującego się przy Katedrze Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody UG. Projekt

„Kod kreskowy DNA (DNA Barcoding) i bank DNA chronionych roślin naczyniowych na terenie województwa pomorskiego” zrealizowano w ramach konkursu organizowanego przez Wojewódzki Fundusz Ochrony Środowiska w Gdańsku oraz dofinansowany przez Uniwersytet Gdański. W projekcie zebrano ponad 180 (w tym 437 okazów) gatunków chronionych roślin naczyniowych. Moją rolą oprócz nadzoru nad projektem było uzyskanie fragmentów genu *rbcL* i *matK* dla oznaczonych okazów i zdeponowanie ich w bazie BARCODE OF LIFE DATA SYSTEM (Bold Systems v4) w celu identyfikacji tych gatunków przez innych użytkowników. Jako główny marker do identyfikacji wybrałem gen *rbcL*, natomiast jako pomocniczy marker, gen *matK*. W bazie zdeponowałem sekwencje dla 122 gatunków (117 *rbcL*; 73 *matK*) obejmujących 305 okazów dla genu *rbcL* i 157 okazów dla genu *matK*. Łącznie zdeponowałem 462 sekwencje. Zaletą bazy BOLD są umieszczone tam chromatogramy sekwencji dostępne dla wszystkich użytkowników w formacie .ab1. Pozwala to na ocenę jakości sekwencjonowania, na której opiera się identyfikacja. Poza bazą BOLD w ramach mojej naukowej działalności podczas realizacji różnych projektów zdeponowałem (jestem autorem/współautorem) ponad 1200 rekordów sekwencji przedstawicieli rodziny Orchidaceae. Rekordy te znajdują się w bazie NCBI.

Zaproszony zostałem także przez prof. dr hab. n. farm. Marię Łuczkiwicz z Katedry i Zakładu Farmakognozji Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego do pomocy przy molekularnej identyfikacji *Salvia apiana* (Lamiaceae) - Krol, A., Kokotkiewicz, A., **Gorniak, M.** *et al.* Evaluation of the yield, chemical composition and biological properties of essential oil from bioreactor-grown cultures of *Salvia apiana* microshoots. *Sci Rep* **13**, 7141 (2023).

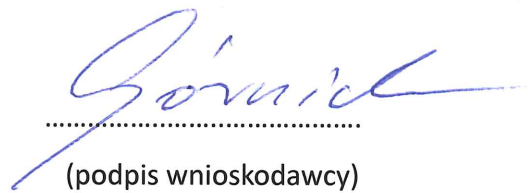
7.1.2 Analiza i interpretacja danych z wielkoskalowego sekwencjonowania DNA (NGS)

W dobie sekwencjonowania nowej generacji (NGS) uzyskanie dużej liczby danych sekwencyjnych nie stanowi problemu. Pewną barierą są środki finansowe, natomiast trudność stanowi analiza danych. W ramach współpracy ze studentami/absolwentami

kierunku Bioinformatyka (lic. Maciej Pietkiewicz) z Wydziału Matematyki i Fizyki oraz odbyciu szkoleń bioinformatycznych nabyłem umiejętności analizy danych genomowych. Wykorzystałem je podczas współpracy z zespołem prof. dr hab. Grzegorza Węgrzyna analizując genomy nowo odkrytych bakteriofagów. Efektem tej współpracy są trzy publikacje w *International Journal of Molecular Sciences*, które ukazały się w 2020 roku. Nawiązałem także współpracę z dr Lidią Boss specjalistką badającą system toksyna-antytoksyna (TA) u bakterii *Dickeya dadantii*. W ramach współpracy wykonałem analizę filogenetyczną kompletnych genomów bakterii z rodziny Pectobacteriaceae oraz naniósłem dane dotyczące występowania tych systemów, aby określić czy istnieje korelacja pomiędzy pokrewieństwem a występowaniem/utratą tych systemów (Boss, L., **Górniak, M.**, Lewańczyk, A., Morcinek-Orłowska, J., Barańska, S., & Szalewska-Pałasz, A. (2021). Identification of three type II toxin-antitoxin systems in model bacterial plant pathogen *Dickeya dadantii* 3937. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5932).

Mając świadomość, że historia ewolucyjna genomów jest mozaikowata bardzo krytycznie podchodzę do wnioskowania o filogenezie organizmów na podstawie kompletnych genomów, które w dobie NGS stało się standardem. Wykorzystanie informacji z dużej części genomu, może zatrzeć ślad hybrydyzacji, która w wielu przypadkach jest motorem specjacji. To co mnie interesuje to rozbitcie sygnału z przed hybrydyzacji i wskazanie jaka część genomu przodków pozostała po procesie selekcji u rekombinantów. Doświadczenie, które zdobyłem podczas detekcji hybrydyzacji u roślin obecnie wykorzystuję w analizach genomów bakteriofagów. Oprócz wspomnianych analiz wykonanych dla zespołu prof. dr hab. Grzegorza Węgrzyna nawiązałem ścisłą współpracę z dr Jurczak-Kurek, ekspertką od pozyskiwania bakteriofagów ze środowiska wodnego. Wspólnie tworzymy zespół badawczy (oboje jesteśmy zatrudnieni w Pracowni Ewolucji Molekularnej i Bioinformatyki) zajmujący się opisywaniem oraz wpływem hybrydyzacji na poszerzanie spektrum gospodarza przez bakteriofagi i wykorzystaniu ich w fagoterapii. Moją rolą w tym zespole jest szeroko pojęta analiza danych bioinformatycznych

z sekwencjonowania NGS. Efektem naszej współpracy jest publikacja dotycząca wpływu rekombinacji na genomy bakteriofagów: **Górniak, M.**, Zalewska, A., & Jurczak-Kurek, A. (2022). *Recombination events in putative tail fibre gene in Litonavirus phages infecting Pseudomonas aeruginosa and their phylogenetic consequences*. *Viruses*, 14(12), 2669. Częścią naszego zespołu jest także mgr Aleksandra Zalewska, dla której jestem promotorem pomocniczym w jej projekcie doktorskim.



(podpis wnioskodawcy)