

Dr hab. Bożena Denisow,
Katedra Botaniki,
Pracownia Biologii Roślin Ogrodniczych,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

Lublin, 3.07.2016

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Joanny Agaty Gębury pt: „Badania embriologiczne *Tinantia anomala* (Torr.) C.B. Clarke” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Krystyny Winiarczyk w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Podstawę formalną opracowania recenzji stanowi uchwała Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie oraz zlecenie Dziekana Wydziału, Pana prof. dr hab. Kazimierza Trębacza z dnia 30 maja 2016 roku na wykonanie recenzji.

Praca mgr Joanny Agaty Gębury wpisuje się w nurt badań z zakresu cytologii i embriologii, w prowadzeniu których pracownicy Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej cieszą się zasłużoną renomą. Rozprawa obejmuje badania w dziedzinie biologii i embriologii zmierzające do określenia potencjału *Tinantia anomala*, gatunku o ograniczonym zasięgu występowania, do propagacji generatywnej. Dotyczy więc zagadnień aktualnych i szeroko dyskutowanych w literaturze światowej, ze względu na istnienie znaczących luk w wiedzy z zakresu przystosowań (na różnych poziomach organizacji) do zapewnienia sukcesu reprodukcyjnego gatunku. Wybór przedmiotu badań jest tym bardziej interesujący, że dotyczy gatunku endemicznego.

Ocena formalna

Rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Agaty Gębury ma charakter eksperymentalno-opisowy. Ma postać liczącego 225 stron wydruku komputerowego i zgodny z normami przyjętymi dla tego typu opracowań typowy układ. Całość składa się z 13 rozdziałów, z wydzielonymi podrozdziałami, konsekwentnie ponumerowanymi. Rozprawa zawiera obszerną dokumentację fotograficzną obejmującą 24 tablice czarno-białe i barwne. Część wyników przedstawiono w formie dokumentacji tabelarycznej (4) i graficznej, tj. rysunki (8) i wykres (1). Spis literatury zawiera 186 pozycji. Bibliografia obejmuje zarówno klasyczne pozycje historyczne jak i opisujące najnowsze osiągnięcia z zakresu tematyki badań, głównie są to oryginalne opracowania anglojęzyczne.

We wstępie (rozdział 1) autorka omawia ogólne zagadnienia dotyczące cyklu życiowego roślin okrytonasiennych, z uwzględnieniem mechanizmów odpowiedzialnych za kwitnienie i działających na poziomie molekularnym. Doktorantka kolejno szczegółowo opisuje stan wiedzy dotyczącej mikrosporogenezy, mikrogametogenezy, megasporogenezy, megagametogenezy oraz strategię i przystosowania występujące w kwiatach roślin z rodziny Commelinaceae w celu zapewnienia sukcesu reprodukcyjnego. Odrębny podrozdział poświęca klasyfikacji gatunków w obrębie rodziny Commelinaceae oraz syntetycznie przedstawia cechy budowy morfologicznej przedstawicieli.

Rozdział 2 detalicznie przedstawia cel pracy z podziałem na cele podstawowe oraz dodatkowe.

Rozdział 3 „Materiały i metody” zawiera informacje dotyczące wykorzystanych materiałów biologicznych, odczynników i metod badawczych. Przedstawione informacje są w zasadzie kompletne i wystarczają dla jednoznacznie pozytywnej oceny warsztatu metodycznego pracy. (Uwaga szczegółowa – w dalszej części recenzji).

W rozdziale 4, liczącym 26 stron, omówiono wyniki badań. Na podkreślenie zasługuje przeprowadzona analiza genetyczna przedstawiająca rezultaty identyfikacji genetycznej oraz pozycji taksonomicznej badanego gatunku. Uzyskane wyniki opisane są wyczerpująco i imponują wszechstronnością zastosowanych metod badawczych. Całość dopełnia obszerna dokumentacja. Na podkreślenie zasługuje doskonała jakość i czytelność materiału zdjęciowego.

W rozdziale 5 przedstawiono dyskusję (26 stron), w której Autorka w sposób klarowny konfrontuje badania własne z poglądami innych autorów, przedstawia ciekawe hipotezy w celu wyjaśnienia uzyskanych, nowatorskich wyników. Dyskusja wykonana jest bardzo rzetelnie i z dużą biegłością.

Rozdział 6 zawiera podsumowanie i wnioski końcowe, a rozdział 7 jest abstraktem w języku angielskim.

Kolejne rozdziały to „Dokumentacja fotograficzna”(8), „Literatura” (9), oraz spis tabel (10), spis rysunków (11), spis wykresów (12) i spis tablic (13).

Praca napisana jest poprawnym stylistycznie językiem.

Ocena merytoryczna

W pracy Doktorantka wskazała na wiele przystosowań, które świadczą o dużym potencjale w zakresie propagacji generatywnej przy równoczesnym występowaniu barier, które skutecznie ograniczają rozprzestrzenianie endemicznego gatunku *Tinantia anomala*. Wśród adaptacji do zapylania przez owady w beznektarnikowych kwiatach *T. anomala*

należy wymienić barwny okwiat, heteromorfizm pręcików, dualizmem barwy ziaren pyłku, występowanie zróżnicowanych trichomów, które mogą pełnić np. rolę powabni optycznej. Wśród cech sprzyjających efektywnej reprodukcji generatywnej moją uwagę zwróciła wysoka funkcjonalność ziaren pyłku, mierzona żywotnością oraz wysoką zdolnością kiełkowania.

Niezmiernie interesującym elementem pracy jest wykazanie obecności w pylnikach 203 polipeptydów, wśród nich białek metabolicznie czynnych i zaangażowanych w ekspresję genów oraz budulcowych i dodatkowe wykazanie, że skład peptydów różni się pomiędzy pylnikami pręcików zewnętrznego i wewnętrznego okółka. Innym ważnym wątkiem pracy jest udokumentowanie występowania kryształów szczawianu wapnia CaOx, które deponowane są w różnych częściach rośliny, w tym w wielu elementach i strukturach kwiatu, np. w tapetum pylników i ścianach załączni. Doktorantka szeroko przedyskutowała możliwe funkcje CaOx, wskazując na obronę przed roślinożercami, ale też wykazując, że kryształy szczawianu wapnia stanowią swoisty depozyt pierwiastka, uruchamianego w razie potrzeby np. w celu wykorzystania w trakcie formowania sporodermy, o czym świadczy spadek liczby rafidów w trakcie mikrosporogenezy.

Kolejnym niezmiernie interesującym spostrzeżeniem Doktorantki jest opisanie unikatowych w świecie roślin struktur w kształcie pierścieni, które przylegają do sporodermy ziaren pyłku, a powstają w okresie degradacji tapetum. Kandydatka zaprezentowała trzy ciekawe hipotezy, które potencjalnie mogą wyjaśniać funkcje pierścieni (funkcja amortyzująca, chroniąca ziarna pyłku w okresie otwierania pylników; hydrofobowe przyciąganie ziaren pyłku do sporopoleniny bez znaczącej roli w procesie pylenia; funkcja separacji ziaren pyłku w celu rozproszenia ziaren podczas zapylania).

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki niosą duży potencjał badawczy na przyszłość, np. wyjaśnienie wymaga morfologia ziaren pyłku *T. anomala*, która znacznie odbiega od innych przedstawicieli Commelinaceae; określenie funkcji metabolicznej białek zróżnicowanych typologicznie pomiędzy heteromorficznymi pręcikami i ewentualnego ich znaczenia w procesie zapylania beznektarnikowych kwiatów.

Na obecnym etapie wiedzy embriologicznej najbardziej interesujące byłoby kontynuowanie badań dotyczących biologii kwitnienia *T. anomala* w naturalnym środowisku występowania gatunku, w celu określenia np. udziału propagacji wegetatywnej i/lub generatywnej, sposobu dyspersji nasion, określenie potencjalnych efektywnych zapylaczy (tzw. *true pollinators*).

W trakcie analizy tekstu rozprawy nasunęło mi się jednak kilka uwag i wątpliwości, które wymagają doprecyzowania i wyjaśnienia.

We „Wstępie” s. 24 – zawarto stwierdzenie „Krótkie stadium otwarcia kwiatów”...- proponuję „krótki czas trwania antezy...”

W rozdziale „Materiał i metody” nie znalazłam poszerzonej informacji o przedmiocie badań. W mojej ocenie przedstawiony opis dotyczy terenu badań i warunków w jakich uprawiano rośliny eksperymentalne. W tym miejscu pracy dobrze byłoby zawrzeć uszczegółowione informacje dotyczące badanego gatunku (zasięg występowania w naturze, typ siedliska, podstawowe cechy morfologiczne).

Korzystne byłoby uściślenie opisu zastosowanych w doświadczeniu sposobów (wariantów) zapylania. W rozdziale „Materiał i metody” użyto określeń wariant A,B,C,D, bez dokładnego ich opisu. Opis pojawia się dopiero w rozdziale „Wyniki”, gdzie Autorka dodatkowo wprowadza terminologię wariant pierwszy, drugi itd.

W rozdziale „Wyniki” (4.2) zawarto informację, że długość trwania antezy zależała od temperatury i nasłonecznienia. Czy nie chodzi raczej o usłonecznienie?

W mojej ocenie określeniem bardziej prawidłowym dla opisu androecium byłoby użycie określeń okółek zewnętrzny (dla stosowanego w pracy dolny okółek androecium) oraz okółek wewnętrzny (dla stosowanego w pracy górny okółek androecium).

W rozdziale „Dyskusja” użyto sformułowania wydajność kielkowania. Powszechnie używa się określenia zdolność kielkowania (= % ziaren pyłku, które wytwarzają łagiewki pyłkowe, a więc są funkcjonalne).

W mojej opinii spisy: tabel (10), rysunków (11), wykresów (12) i tablic można było przedstawić jak jeden rozdział.

Całość została przygotowana dość starannie pod względem edytorskim. Dostrzegłam jedynie nieliczne błędy literowe (np. s. 9 jest ściana kalozową – powinno być ścianą kalozową; s. 30 jest cześć – powinno być część; s. 18 jest wytwarzanych – powinno być wytwarzanych; s. 58 jest pakami – powinno być pąkami; s. 91 jest między – powinno być między; s. 94 jest penetracje – powinno być penetrację; s. 99 jest David 1966 – powinno być Davis 1966; s. 88 jest Mattson 1976, a w spisie literatury jest Mattsson 1982 – która wersja jest poprawna?). Istnieje rozbieżność pisowni McCollum – w tekście pracy i Mccollum w spisie literatury.

Analizując wykorzystanie i przywołanie w tekście źródeł dostrzegłam niewykorzystanie w tekście dwóch pozycji, które umieszczone są w spisie literatury (Brenen JP. 1966. The classification of Commelinaceae. Bot J Linn Soc 59:349-370 oraz Grootjen CJ, Oumen FB 1981. Development of ovule and seed in *Stanfieldiella imperforata* (Comelinaceae). Aust J Bot 31: 297-305).

Podsumowanie i konkluzja

Wymienione w recenzji uwagi nie wpływają na zasadniczą, pozytywną i bardzo wysoką ocenę merytoryczną przedstawionej do recenzji dysertacji. Dodatkowym i bardzo dobitnym potwierdzeniem wartości naukowej przedstawionych badań jest publikacja części wyników w renomowanym czasopiśmie *Journal of Plant Research* (IF 1,684), w której Doktorantka jest pierwszą autorką.

Doktorantka w pełni opanowała różne techniki mikroskopowe: świetlną jasnego pola (LM) i fluorescencyjną (LSM) oraz elektronową skaningową (SEM) i transmisyjną (TEM) oraz zdobyła umiejętność stosowania różnorodnych metod cyto- i histochemicznych. Dodatkowo mgr Joanna Agata Gębura zdobyła wiedzę w zakresie procedur izolowania i sekwencjonowania DNA oraz niektórych gałęzi proteomiki. Zaprezentowana praca w pełni potwierdza samodzielność Doktorantki, wskazuje na jej pracowitość i rzetelność oraz umiejętność stosowania procedur badawczych. Kandydatka posiada zdolność dokumentacji i interpretacji wyników własnych oraz ich konfrontacji z opiniami innych autorów.

Reasumując uważam, że praca przygotowana przez Panią mgr Joannę Agatę Gębурę w oparciu o oryginalny materiał badawczy i dowodowy **spełnia wymagania** określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595; Dz.U. z 2005 nr 164 poz. 1365; Dz.U. z 2011 nr 84, poz. 455) i stawiam wniosek o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Uważam również, że przedłożona do oceny rozprawa zasługuje na wyróżnienie, o co wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej.


Dr hab. Bożena Denisow