

Dr hab. Maria Kościńska-Pajak
Zakład Cytologii i Embriologii Roślin
Instytut Botaniki
Uniwersytetu Jagiellońskiego
ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
Tel. 12 664 60 33
e-mail: maria.pajak@uj.edu.pl

Kraków, 28. sierpnia 2020 r.

RECENZJA

**pracy doktorskiej mgr. RAFAŁA MARCIŃCA
pt. „Mikrosporogeneza u *Tinantia erecta* (Jacq.) Frenzl ze szczególnym
uwzględnieniem rozdziału autonomicznych organelli komórkowych”.**

**wykonanej w Instytucie Nauk Biologicznych
Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej
pod kierunkiem dr hab. Krystyny Winiarczyk, prof. UMCS**

Już na przełomie XIX i XX wieku, obserwowano, że oprócz kariokinezy i cytokinezy, podczas podziału mejotycznego zachodzą charakterystyczne przegrupowania autonomicznych organelli komórkowych (chondrionu). Co więcej, w późniejszych latach stwierdzono, że organella komórkowe nie przemieszczają się w sposób przypadkowy, ale według określonego wzorca, oraz że przegrupowania chondrionu są charakterystyczne dla gatunku i niezwykle ważne. Proces ten, zwany chondriokinezą, zapewnia przede wszystkim efektywną segregację autonomicznych organelli komórkowych, a wraz z nimi cytoplazmatycznego DNA, i jego właściwe dziedziczenie. Zaburzenia w rozdziale tych autonomicznych organelli często są przyczyną cytoplazmatycznej męskiej sterility.

Obserwacje Pana Rafała Marcińca wpisują się w nurt badań nad procesem, który jest nie tylko ważnym uzupełnieniem kariokinezy, ale odgrywa istotną rolę w polaryzacji mejocytów i wyznaczeniu płaszczyzny podziału komórek, co odgrywa ogromną rolę w formowaniu żywotnych mikrospor.

Należy pokreślić, że badany przez Doktoranta gatunek *Tinantia erecta* jest pierwszym, i jak dotąd jedynym, taksonem z rodziny Commelinaceae, u którego tak szczegółowo analizowano proces chondriokinezy w mikroskopie świetlnym, elektronowym mikroskopie transmisyjnym, w skanującym laserowym mikroskopie konfokalnym oraz elektronowym mikroskopie skaningowym. Przeprowadzono także badania histochemiczne i kiełkowanie pyłku *in vitro* na pożywce.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa jest obszernym opracowaniem, napisanym w języku polskim, zawartym na 233 stronach maszynopisu. Struktura ocenianej pracy doktorskiej jest standardowa i obejmuje istotne i wymagane części tj. teoretyczny „Wstęp”, precyzyjnie sformułowany „Cel pracy”, opisy „Materiałów, Metod” i „Wyników” oraz „Dyskusję”, „Bibliografię”, a także „Streszczenie”, w języku polskim i angielskim.

Ponadto, do rozprawy dołączono „Aneks” zawierający życiorys naukowy Doktoranta, udział w projektach badawczych, doświadczenia dydaktyczne, spis publikacji naukowych, udział w konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych, udział w szkoleniach i seminariach naukowych oraz bogatą działalność popularyzującą naukę.

We wstępie omówione zostały zagadnienia konieczne do zrozumienia celów rozprawy, między innymi typy chondriokinezy oraz dziedziczenie cytoplazmatyczne.

Rozdział „Materiały i Metody” zawiera wszystkie dane niezbędne do ewentualnego powtórzenia przedstawionych w pracy obserwacji. Lista opisanych metod, które były używane w pracy, jest bogata, i wraz z przedstawionymi wynikami i ich dyskusją, nie pozostawia wątpliwości, że doktorant opanował metodykę badań embriologicznych.

Cele pracy zostały jasno sprecyzowane i są zgodne z tematem rozprawy.

Wyniki pracy uzupełnione zostały obszerną dokumentacją fotograficzną liczącą 105 fotografii zestawionych w 29 tabelach. Bogata dokumentacja fotograficzna stanowi wartościowe uzupełnienie opisywanych w rozdziale „Wyniki” obserwacji, m. in. przebiegu mikrosporogenezy ze szczególnym uwzględnieniem chondriokinezy, ultrastruktury tapetum, plastydów i mitochondriów oraz konfiguracji cytoszkieletu aktynowego. Na szczególną uwagę zasługuje bardzo dobra jakość materiału ilustracyjnego.

Warto podkreślić, że w rozdziale „Wyniki” Autor przedstawił też wyniki badań genetycznych potwierdzające pozycję systematyczną badanego gatunku.

„Dyskusja” jest omówieniem znaczenia uzyskanych wyników. Autor umiejętnie konfrontuje je z rezultatami przedstawionymi w literaturze naukowej. W tym rozdziale Autor zamieścił ponadto, w formie przejrzystej tabeli, zestawienie danych z literatury dotyczących zróżnicowania morfologicznego i funkcjonalnego pręcikowia oraz pyłku u gatunków z rodziny Commelinaceae, co moim zdaniem jest bardzo pomocne dla czytelnika.

Wnioski odpowiadają na wyznaczone cele i znajdują pokrycie w przeprowadzonych obserwacjach i uzyskanych wynikach.

Bibliografia obejmuje 308 pozycji (w zasadzie jest ich 306 gdyż dwie wpisane są dwukrotnie), głównie w języku angielskim, i zawiera pozycje obejmujące zagadnienia związane z tematem pracy, a dobór cytowanej literatury nie budzi żadnych zastrzeżeń. Jednakże ponumerowanie pozycji literatury byłoby dla recenzenta pewnym ułatwieniem.

Pracę doktorską Pana Rafała Marcińca, w której wykazał się znajomością wybranej tematyki badawczej, umiejętnością interpretacji i formułowania wniosków, przeczytałam z przyjemnością, rozprawa została napisana poprawnym językiem polskim, jednak podczas czytania nasunęło mi się kilka uwag:

- we „Wstępie”, w podrozdziale 3.2.1 (str. 15, drugi akapit) fragment zdania „w trakcie mejozy następują po sobie dwa podziały mejotyczne, pierwszy to...” zastąpiłabym np. Mejoza obejmuje dwa kolejno następujące po sobie podziały, z których pierwszy jest podziałem redukcyjnym...

- w podrozdziale 3.2.3 (str.18) nieco razi mnie określenie „na ścianie komórek odkładana jest kaloza”, które można by np. sformułować: w ścianach komórek/mejocytów syntetyzowana jest/pojawia się kaloza...

- w podrozdziale 3.4 (str. 26) proponuję, aby zamiast „poprzez analizę struktury i organizacji ptDNA...stwierdzono” napisać: Analizując strukturę i organizację ptDNA..... stwierdzono...

- w podrozdziale 6.2 (str. 48) i w podrozdziale 6.3 (str. 49) pojawiły się nieścisłości w użyciu terminów pylniki i pręciki, które powinny być skorygowane podczas przygotowywania pracy do druku.

Jak już wspomniałam wyżej, materiał ilustracyjny jest bardzo dobrej jakości, jednakże mam pewne zastrzeżenia do precyzji oznaczeń. Na przykład na tablicy 6 (fot. C) wzór strzałki wskazujący plazmodesmy został także zastosowany do mitochondriów, plastydów i rafidów. Te struktury mają wprawdzie niewielkie rozmiary, ale moim zdaniem użyte oznaczenia literowe (m, p, r) byłyby wystarczające. Domyślałam się, że Autorowi zależało na wyraźnym wskazaniu skupisk poszczególnych struktur, jednakże zastosowanie takiego samego wzoru strzałek w odniesieniu do różnych struktur jest mylące. Z kolei na tablicy 10 (fot. C) w opisie jest mowa o strzałce wskazującej plazmodesmy, ale brakuje jej na fotografii, na której widnieją jedynie dwie strzałki przy literach „m” i „p” opisujących plastydy i mitochondria. Ponadto na tablicy 15 (fot. A, B, D) znajdują się strzałki, o których nie ma mowy w opisie. Umieszczenie na tablicy 21 białych i czarnych strzałek, bez zaznaczenia tego w opisie, utrudnia interpretację materiału ilustracyjnego. Przy przygotowywaniu pracy do druku warto zatem zadbać o bardzo precyzyjny opis fotografii i jego zgodność z oznaczeniami.

Mam także kilka uwag odnośnie bibliografii:

- prace Pellegrini MOO, Faden RB, Almeida RF (2016) i Russell SD (1985) zostały wpisane dwukrotnie,
- nie znalazłam w tekście rozprawy umieszczonej w spisie literatury pracy Faden RB (2003), natomiast w pracy jest cytowana praca Faden 2001, której z kolei nie ma w spisie literatury,
- w bibliografii jest cytacja Hogan (1987), natomiast w tekście jest Hogan i wsp. 1987,
- w spisie literatury jest praca Mól R (2003), a w tekście pracy jest Mól i wsp. 1995,
- nie udało mi się znaleźć w tekście rozprawy odniesienia do pracy Sheffield E, Bell PR (1987), która zamieszczona jest w bibliografii.

Sprawdzenia wymagają też prace cytowane w tabeli 10 znajdującej się w rozdziale „Dyskusja”, zwłaszcza prace: Faden 1985, Gamarro 1986 oraz Handlos 1970.

Jestem przekonana, że podczas przygotowania pracy do druku te nieścisłości zostaną przez Autora skorygowane.

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa oparta jest na obszernych badaniach embriologicznych, morfologicznych oraz genetycznych i jest oryginalnym, szczegółowym omówieniem przebiegu chondriokinezy.

Wykorzystane w toku badań różne techniki mikroskopowe sprawiają, że ten ważny proces, zachodzący w toku rozwoju męskiego gametofitu, opracowany został wieloaspektowo. Niewątpliwie wyniki pracy doktorskiej Pana Rafała Marcińca uzupełniają naszą wiedzę dotyczącą ważnego elementu rozwoju męskiego gametofitu, jakim jest chondriokineza. Ponadto, biorąc pod uwagę występujące w rodzinie Commelinaceae zróżnicowanie gatunków, szczegółowe obserwacje etapów mikrosporoogenezy u *Tinantia erecta* mogą stanowić punkt odniesienia do badań porównawczych kolejnych gatunków w obrębie rodzaju i rodziny.

Nieliczne uwagi w żadnej mierze nie umniejszają wartości poznawczej pracy, mam nadzieję, że okażą się pomocne w przygotowaniu pracy do druku.

W mojej ocenie praca jest wartościowym opracowaniem i spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 13 ustawy z dnia 14. marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym i zwracam się do Wysokiej Rady o dopuszczenie Pana mgr. Rafała Marcińca do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wartość poznawczą przeprowadzonych badań przedkładam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.



dr hab. Maria Kościńska-Pajak