

Dr hab. Elżbieta Cieślak, prof. IB PAN  
Instytut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk  
ul. Lubicz 46  
31-512 Kraków

## **Recenzja**

### **rozprawy doktorskiej mgr Barbary Pawełek**

pt. „Czynniki wpływające na różnice w proporcji płci u wybranych gatunków rodzaju *Rumex* w kolejnych etapach rozwoju osobniczego”

#### **Formalny aspekt rozprawy**

Podstawą do wykonania niniejszej recenzji było pismo prof. dr hab. Andrzeja Kozika, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, w sprawie wyznaczenia recenzentów w przewodzie doktorskim mgr Barbary Pawełek przez Radę Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego na posiedzeniu w dniu 16.10.2018 r. Przedstawiona mi do recenzji dysertacja doktorska mgr Barbary Pawełek została przygotowana pod kierunkiem dra hab. Grzegorza Góralskiego (promotor) i dr Dagmary Kwolek (promotor pomocniczy), w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego. Rozprawa doktorska została przygotowana w formie spójnego manuskryptu, który obejmuje stronę tytułową, podziękowania, spis treści, streszczenia w językach polskim i angielskim (Abstract), siedem rozdziałów, które tworzą strukturę rozprawy doktorskiej i obejmują: wstęp, cele, materiały i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie i propozycję dalszych badań oraz spis cytowanej literatury (brak w spisie treści).

Tematyka pracy dotyczy powstania i kształtowania rozdzielności u roślin okrytonasiennych, które w toku ewolucji wykształciły różnorodne systemy seksualne: od hermafrodytyzmu, przez wiele stadiów pośrednich, do dwupienności, czyli obecności w populacji osobników męskich i żeńskich. Ta różnorodność systemów seksualnych, warunkowana przez różne grupy czynników, jak np. genetyczne czy środowiskowe, sprawia, że badania w zakresie problematyki wczesnej identyfikacji płci u roślin są istotne i aktualne. Nabierają one szczególnego znaczenia w przypadku grupy roślin żeńskich, uprawianych dla owoców lub nasion. W tym kontekście zaproponowane badania zaliczyć można do grupy zarówno badań podstawowych jak i aplikacyjnych.

#### **Merytoryczny aspekt rozprawy**

Prace związane z determinacją płci u roślin okrytozalążkowych wpisują się w nurt badań z zakresu biologii ewolucyjnej, koncentrujących się wokół kwestii powstawania i kształtowania rozdzielności, w tym zagadnień związanych z chromosomową determinacją płci u roślin. U roślin okrytozalążkowych pełną rozdzielność

(dwupienność) stwierdzono tylko u ok. 6% gatunków, a liczba dwupiennych gatunków, u których opisano występowanie heteromorficznych, czyli strukturalnie rozróżnialnych chromosomów płci, ograniczona jest do czterech rodzin. Jedną z nich jest rodzina *Polygonaceae*, do której należy rodzaj *Rumex*, w obrębie którego wskazano grupę gatunków uznanych za modelowe w badaniach dwupienności roślin.

Badania związane zagadnieniami z dotyczącymi struktury i funkcji chromosomów płci oraz zaburzoną proporcją płci w populacjach i nasionach, w oparciu o wybrane gatunki rodzaju *Rumex*, są od dłuższego czasu prowadzone w Zakładzie Cytologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Dotyczą one analiz cytogenetycznych, genetyczno-molekularnych czy też określania czynników warunkujących morfogenezę *in vitro*. W tym nurcie zagadnień mieszczą się także badania mgr B. Pawełek, ale ukierunkowane są na analizę czynników kształtujących i wpływających na różnice w proporcji płci w kolejnych etapach rozwoju osobniczego u trzech gatunków rodzaju *Rumex* – *R. acetosa*, *R. acetosella* i *R. thyrsoiflorus*.

Manuskrypt rozprawy doktorskiej ma klasyczny układ tego typu prac. Rozdział „Wstęp” stanowi wprowadzenie do tematyki badań. Jest to rozdział bardzo obszerny i obejmuje: opis strategii płciowych u roślin na podstawie różnic w budowie kwiatów i ich rozmieszczenia na osobnikach, przedstawienie strategii ewolucyjnych związanych z rozwojem dwupienności, opis mechanizmów odpowiedzialnych za determinację płci u roślin, w tym procesy regulujące występowanie różnych systemów chromosomów płci, zarysowanie stanu dotychczasowej wiedzy w zakresie badań nad sposobami identyfikacji płci u roślin w kontekście ustalania proporcji osobników różnej płci, z odniesieniem do modelowych gatunków z rodzaju *Rumex* i na koniec charakterystykę wybranych gatunków z tego rodzaju w tym również tych, będących przedmiotem badań, tj. *R. acetosa*, *R. acetosella* i *R. thyrsoiflorus*. Wiele aspektów poruszanych w tym rozdziale wykracza znacznie poza temat doktoratu, niemniej daje on przekrój wiedzy, tak w odniesieniu do mechanizmów rozwoju dwupienności w aspekcie ewolucji rozwoju danego gatunku, jak i ewolucji chromosomów płci u roślin. Pod względem edytorskim znacznie odbiega podrozdział szósty zatytułowany „Ogólna charakterystyka roślin rodzaju *Rumex*”, gdzie zostały scharakteryzowane trzy gatunki będące obiektami badań w zakresie przedstawionej pracy. Moim zdaniem opis gatunków jest chaotyczny i szkoda, że Doktorantka nie zastosowała ogólnie przyjętych zasad, np. za *Florą Polski*. Użyte sformułowania opisujące zmienność poszczególnych gatunków w odniesieniu do różnych grup cech często zawierają nieprecyzyjne konstrukcje jak np. „większe liście”, „bardziej rozgałęzione” czy „znacznie niższy”. Uważam również, że właściwszym byłby tytuł podrozdziału – „Ogólna charakterystyka wybranych gatunków rodzaju *Rumex*”. Podobnie w tekście pracy przy opisie pokrewieństwa bardziej prawidłowe jest użycie sformułowania „blisko spokrewnione gatunki w rodzaju *Rumex*” zamiast „spokrewnione rośliny”. Należy jednak stwierdzić, że pomimo wielu aspektów poruszanych we „Wstępie”, Doktorantka umiejętnie przedstawiła i zarysowała problemy w badaniach dwupienności modelowych gatunków wybranych do analiz. Uważam, że są one przedstawione w sposób wyczerpujący, dowodząc zasadności i celowości przyjętych badań.

W kolejnym rozdziale „Cele” został przedstawiony nadrzędny cel pracy, najpierw w formie ogólnej, a następnie uszczegółowiony w celach pośrednich, zestawionych w punktach. Niestety, w pracy w opisie celu nadrzędnego brakło wyraźnego wskazania jakich grup albo jakich wybranych czynników wpływających na stosunek płci na różnych etapach rozwoju roślin będą dotyczyły badania. Uważam, że w tym miejscu należało podać na jakich gatunkach będą realizowane badania.

Część metodyczna – rozdział „Materiał i Metody”, składa się z pięciu podrozdziałów, które z kolei podlegają dalszym podziałom. W rozdziale tym zestawiono informacje w formie opisu odnośnie (i) systemu poletek w warunkach naturalnych i kontrolowanych, na których były prowadzone obserwacje i badania; (ii) systemu poboru z poletek i hodowli materiału wykorzystanego w analizach (całych roślin, nasion) oraz (iii) analiz molekularnych, w tym protokołów dla poszczególnych etapów metod przyjętych do analizy zmienności genetycznej wybranych gatunków.

Pomimo że w pracy Doktorantka podała opis poletek/stanowisk badań z dokładnym ich położeniem, to przy opisie metodyki poboru materiału używa określeń jak np. „...ale także z innych pojedynczych populacji znajdujących się w różnych częściach Krakowa...” czy „...z poletek znajdujących się na terenie różnych rejonów Krakowa...” co nie pozwala na odniesienie danego miejsca do tych zdefiniowanych w pracy. Stwierdzam także, że w przedstawionych planowanych badaniach na poszczególnych powierzchniach brakuje spójności co do okresu ich prowadzenia. Część badań prowadzona była przez cztery sezony wegetacyjne, ale były i takie obejmujące tylko jeden sezon. W tym ostatnim przypadku, obserwacje wykonywano co tydzień, ale taki układ nie daje możliwości sprawdzenia powtarzalności wyników w odniesieniu do poszczególnych okresów. Dlatego w mojej ocenie te badania mają jedynie charakter badań wstępnych. W części metodycznej przy opisie poszczególnych etapów analiz w metodzie RAPD nie znalazłam informacji o przeprowadzeniu testu powtarzalności tej metody. Wydaje się, że niezbyt trafnie sformułowano tytuł podrozdziału d. „Badanie wpływu kiełkowania nasion *R. thyrsoiflorus* w warunkach suszy fizjologicznej” gdyż z treści wynika, że badania dotyczyły ustalenia wrażliwości nasion obu płci *Rumex thyrsoiflorus* na suszę fizjologiczną spowodowaną PEG (8000).

Rozdział „Wyniki”, podzielony na siedem podrozdziałów, stanowi bardzo szczegółowe przedstawienie zakresu wykonanych prac na poletkach, sposób zbioru i dokumentowania danych (w tym również molekularnych) pod kątem jakościowym i ilościowym oraz wyniki analiz statystycznych uzyskanych danych. Układ rozdziału jest spójny, co nadaje tak wielowątkowemu wynikowi charakter uporządkowania i przejrzystości. Czytelność danych ułatwiają też liczne zestawienia tabelaryczne (w sumie 18 tabel) i wykresy (w sumie 40 rycin). Niestety, przy referowaniu wyników pojawiają się niepotrzebnie powtórzenia z rozdziału „Materiał i Metody”. Do mankamentów pracy należy zaliczyć skromny zestaw metod statystycznych w odniesieniu do analiz zmienności genetycznej wybranych gatunków. Błąd w numeracji tabel spowodował, że od tabeli 9 (strona 50 manuskryptu) cytacje kolejnych tabel w tekście nie korespondują z numeracją tabel (nie znalazłam tabeli 27). Na wykresach od numeru 5 do 7 brak opisu zastosowanego oznaczenia.

Wyniki swoich badań Doktorantka omówiła w odniesieniu do danych z literatury w rozdziale „Dyskusja”. W moim doczuciu ten rozdział w dużej części stanowi jednak referowanie wyników. W wielu miejscach, przy dyskusji wpływu badanych czynników na stosunek płci jest odniesienie do uwarunkowań genetycznych. Doktorantka w swojej pracy nie prowadziła jednak badań w tym zakresie. Badania genetyczne wg podanego celu były wykorzystane do identyfikacji męsko-specyficznego fragmentu u *Rumex acetosella*. Podobnie jest w przypadku podejmowania dyskusji w odniesieniu do czynników siedliskowych (jak np. żyzność, której wpływu Doktorantka nie badała) czy konkurencji innych roślin (dla żadnego z poletek nie wykonano spisu składu gatunkowego). Część wyników, dotycząca wzorów struktury genetycznej u badanych gatunków jest dyskutowana w odniesieniu do sposobu rozmnażania się badanego gatunku. Szkoda, że przy charakterystyce gatunków, strategię rozmnażania nie zostały opisane i nie został określony wpływ danej strategii na poziom zmienności genetycznej.

W kolejnym rozdziale „Posumowanie i propozycja dalszych badań” Doktorantka w nawiązaniu do założonych celów szczegółowych w formie punktów zestawiała swoje osiągnięcia. Na koniec podaje również propozycję kontynuacji badań (z zaplanowaniem poszerzenia hodowli w warunkach kontrolowanych czy w przypadku badań genetycznych z uwzględnieniem innych metod). Uważam, że należy docenić to, iż Doktorantka potrafiła krytycznie ale i realnie ocenić zakres wykonanych swoich prac i zarysować kolejne problemy badawcze do rozwiązania w tym temacie.

Pracę kończy rozdział „Literatura”, który jest bardzo obszerny, liczy 244 pozycje. Wśród zacytowanych publikacji są źródła starsze, jak też opracowania najnowsze, prezentujące aktualny stan wiedzy w zakresie tej problematyki. Dowodzi to, że Doktorantka przeprowadziła bardzo szeroki przegląd literatury dotyczący podjętego tematu.

## **Uwagi**

Moja ogólna uwaga odnosi się do stylu języka, jakim została napisana praca. W mojej ocenie, szczególnie w przypadku wyników i dyskusji, tekst wymaga dopracowania językowego i edytorskiego. Dotyczy to również tytułów podrozdziałów. W tekście używane są stosunkowo często sformułowania, określane *skrótami myślowymi* czy *ogólnymi prawdami*, które sprawiają, że jest on miejscami powierzchowny, niezrozumiały i trudny w odbiorze, np. „warunki półkontrolowane” zamiast częściowo kontrolowane; „krzywa ma dużo łagodniejszy kształty” – krzywa ma gładszy przebieg; „widać liczby” – podane są wartości; „schemat przedstawia stan roślin” – zestawienie roślin w poszczególnych stadiach rozwoju; „na przebiegu wykresu widać wyraźne wgłębienie” – na zależności widać minimum; „porównanie między stanowiskami dla nasion” – należy podać czego dotyczy porównanie jak i właściwszą formą będzie „udziału nasion” czy sformułowania „po pewnym czasie”, „po pewnym etapie”. Przy podaniu za autorem cytowanej pracy nazw państw Czechosłowacja czy ZSRR, równoległe należało podać ich aktualnie obowiązujące nazwy. Doktorantka w tekście często stosuje zamiennie nazwę łacińską z polską badanych gatunków. W takim przypadku powszechnie stosuje się jednak zasadę, że pierwszy raz użyta nazwa (np. w rozdziale

z charakterystyką obiektów badań) jest podana podwójnie, a później w tekście już w jednej z wersji. Kolejną zasadą jest, pisanie kursywą nazw łacińskich gatunków.

### **Wnioski końcowe**

Moje uwagi nie wpływają na ogólnie pozytywną ocenę pracy. Podjęte przez Doktorantkę badania uważam za uzasadnione i przyczyniające się do pogłębienia wiedzy na temat czynników wpływających na różnice w proporcji płci u wybranych gatunków rodzaju *Rumex*. Rozprawa doktorska zawiera prawidłowy układ rozdziałów, a w nich odpowiednie informacje, tj. dane, opisy, ilustracje oraz interpretację uzyskanych wyników. Pokazuje szeroką teoretyczną wiedzę Doktorantki i udowadnia umiejętność samodzielnego prowadzenia przez nią pracy naukowej, w tym umiejętność syntezy danych oraz konfrontowania wyników swoich analiz z aktualnym stanem wiedzy znanym z literatury.

### **Konkluzja**

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Barbary Pawełek pt. „Czynniki wpływające na różnice w proporcji płci u wybranych gatunków rodzaju *Rumex* w kolejnych etapach rozwoju osobniczego” przedstawiona mi do recenzji spełnia wszystkie wymogi stawiane przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami).

Wnioskuje zatem do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Barbary Pawełek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Elzbieta Cieślak