



**Prof. dr hab. Sławomir Dresler**  
Zakład Chemii Analitycznej  
Wydział Farmaceutyczny  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Katedra Fizjologii Roślin i Biofizyki  
Wydział Biologii i Biotechnologii  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie  
slawomir.dresler.umlub.pl

Lublin, 22-08-2023

### **Recenzja**

rozprawy doktorskiej autorstwa **mgr. Krzysztofa Lustofina** zatytułowanej  
*„Flower micromorphology and anatomy of selected Pinguicula species from  
Central America”*

wykonanej w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin

Instytutu Botaniki

Uniwersytetu Jagiellońskiego

pod kierunkiem **prof. dr hab. Bartosza J. Płachno**

Fascynacja roślinami mięsożernymi sięga czasów Karola Darwina, który w dziele poświęconym tym niezwykłym organizmom określił je „jednymi z najbardziej cudownych roślin na świecie”. Ze względu na niezwykle sposób pozyskiwania substancji odżywczych – charakterystyczny m.in. dla grzybów i zwierząt, rośliny mięsożerne są swego rodzaju fenomenem przyrodniczym. W tym kontekście, organizmy te stanowią bardzo interesujące obiekty badawcze przyczyniające się do głębszego poznania i zrozumienia m.in. procesów elektrofizjologicznych oraz fitochemicznych. Ponadto swoiste adaptacje morfologiczne roślin mięsożernych sprawiają, że organizmy te są niezwykle ciekawe z punktu widzenia ich morfologii i anatomii.

Z tej perspektywy wysoko oceniam wybór obiektu badawczego prezentowanego w ocenianej dysertacji jakim jest rodzaj tłuścioz *Pinguicula* do którego należą gatunki o

dużym stopniu bioróżnorodności, szczególnie w obrębie budowy organów generatywnych oraz biologii zapylania. Oceniana praca doktorska mgr. Krzysztofa Lustofina wykonana została pod kierunkiem prof. dr hab. Bartosza J. Płachno z Zakładu Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego i stanowi rezultat badań różnorodności budowy kwiatów oraz nagród kwiatowych u wybranych gatunków *Pinguicula* pochodzących z Ameryki Centralnej. Wyniki badań Doktoranta dotyczące bezpośrednio ocenianej rozprawy doktorskiej opublikowane zostały w trzech artykułach oryginalnych w renomowanych czasopismach naukowych takich jak: *Protoplasma*, *Annals of Botany* oraz *International Journal of Molecular Sciences* w okresie od 2020 do 2023 roku. Sumaryczna wartość współczynnika wpływu (Impact Factor, IF) tych publikacji wynosi 12,7. We wszystkich trzech wyżej wymienionych artykułach p. mgr. Lustofin jest pierwszym autorem, a jego deklarowany udział w powstaniu prac wynosił od 72 do 80%. Świadczy to o wiodącej roli i wysokim zaangażowaniu Doktoranta w realizację badań oraz powstanie prac. Całkowity dorobek publikacyjny Doktoranta, razem z pracami stanowiącymi podstawę osiągnięcia naukowego opisywanego w dysertacji, zgodnie z bazą danych Scopus, to 7 prac opublikowanych w czasopismach naukowych o sumarycznej wartości współczynnika wpływu (IF) wynoszącej 29. Indeks Hirscha p. mgr. Lustogina wynosi 4.

Główne założenia oraz cele pracy doktorskiej dotyczyły: (i) porównania struktury i funkcji włoski włączając w to włoski nektarowe u gatunków rodzaju *Pinguicula*; (ii) określenie roli włosków niegruczołowych roślin z rodzaju *Pinguicula*, różniących się taksonomią oraz ustalenie związku między występowaniem włosków niegruczołowych z pozycją filogenetyczną opracowaną na podstawie sekwencji genów *matK* oraz *trnK*; (iii) weryfikacji hipotezy, że rozmieszczenie i różnorodność włosków niegruczołowych i gruczołowych są związane z syndromami zapylaczy, a nie z relacjami filogenetycznymi opartymi na sekwencji regionów *ITS* DNA. Realizacja powyższych celów oparta była na badaniach mikromorfologicznych oraz anatomicznych z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego, transmisyjnego mikroskopu elektronowego, mikroskopu fluorescencyjnego oraz mikroskopu świetlnego z użyciem odpowiednich procedur histochemicznych wykrywających obecność białek, tłuszczu i cukrów. W tym aspekcie zgodnie z

załączonymi oświadczeniami Doktorant wykazał się umiejętnościami: 1) preparacji oraz utrwalania materiału do analizy mikromorfologii oraz ultrastruktury włosków, 2) wykonania przekrojów poprzecznych włosków niegruczołowych, 3) utrwalenia i preparacji kwiatów do analizy mikromorfologii z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego, 4) przeprowadzenia pomiarów morfometrycznych badanych obiektów, 5) oraz wykonania analiz statystycznych, przygotowania tabel i wykresów prezentowanych w publikacjach.

W ostatniej części rozprawy Doktorant opisuje główne rezultaty i wnioski przeprowadzonych badań w których wykazuje, że: (a) zarówno struktura włosków nektarowych, jak i anatomia ostrygi u różnych gatunków *Pinguicula* z Ameryki Środkowej są konserwatywne, ponadto podobne włoski nektarowe zostały odnotowane w ostrygach gatunków z innych rodzajów z rodziny pływaczowatych. Dodatkowo dowodzi, że istnieje wiele podobieństw ultrastrukturalnych między włoskami nektarowymi w *Pinguicula* i *Utricularia*; (b) kwiatowe włoski niegruczołowe gatunków roślin z rodzaju *Pinguicula*, które zostały zakwalifikowane jako gatunki zapylane przez muchówki oraz błonkówki mogą pełnić rolę jadalnych włosków. Natomiast, włoski niewydzielnicze w kwiatkach zapylanych przez inne grupy zapylaczy np. motyle lub kolibry, pełnią inną rolę niż jako nagroda kwiatowa dla swoich zapylaczy; (c) kwiaty zapylane przez motyle oraz kolibry są podobne pod względem budowy oraz charakteryzują się niską różnorodnością włosków niegruczołowych (do 2 typów włosków w obrębie gatunku), a ich występowanie ogranicza się tylko do gardzieli oraz bazalnej części ostrogi, z największą ich liczbą przy wejściu do ostrygi. Co się tyczy kwiatów gatunków zapylanych przez muchówki i błonkówki, cechowały się one dużym zróżnicowaniem włosków niegruczołowych, zaś ich obecność była notowana na całej powierzchni korony oraz gardzieli.

Reasumując, Doktorant sugeruje, że otrzymane rezultaty badań różnorodności morfologicznej kwiatów gatunków *Pinguicula* pochodzących z Ameryki Środkowej świadczą o zmianach adaptacyjnych budowy kwiatów ze względu na poszczególne rodzaje zapylaczy. Doktorant wszechstronnie i w niezwykle szczegółowy sposób opisuje zmiany budowy kwiatów w relacji do konkretnych grup zapylaczy, ponadto wykazuje podobieństwa ultrastruktury budowy włosków nektarowych do innego

rodzaju z rodziny pływaczowatych – *Utricularia*. Na uwagę i uznanie zasługuje niezwykle wysoki poziom opanowania technik mikroskopii świetlnej i elektronowej przez Doktoranta. W szczególności pracochłonne procedury przygotowania preparatów mikroskopowych, budzą szacunek i świadczą o ogromnej wytrwałości i zaangażowaniu Doktoranta w badania naukowe.

W opinii Recenzenta ważnym krokiem w dalszej pracy naukowej Doktoranta byłoby ukierunkowanie kolejnych badań w stronę analiz fitochemicznych i przeprowadzenia analiz porównawczych profili chemometrycznych gatunków *Pinguicula* z opracowanymi danymi morfologicznymi.

Praca doktorska mgr. Krzysztofa Lustofina jest wartościowa i niewątpliwie posiada elementy nowości naukowej niemniej jednak, wypada zwrócić uwagę na te aspekty rozprawy, które budzą pytania bądź wymagają dodatkowego komentarza.

1. W pierwszej pracy, pomimo faktu opisu przeprowadzenia procedury obliczeń statystycznej (część metodyczna) mającej na celu porównanie średnich długości i średnicy główek włosków u różnych gatunków *Pinguicula*, rezultaty obliczeń statystycznych nie zostały zawarte w tabeli 1, jak również nie znaleziono opisu tych obliczeń w opisie wyników.
2. Wskazane byłoby także przeprowadzenie takiej analizy statystycznej danych zawartych na rysunku 2, 4 oraz 6 (publikacja nr 3) odnoszących się do cech włosków u różnych gatunków.
3. Pewną wątpliwość budzi sposób przeprowadzenia dyskusji analizy filogenetycznej. Niezwykle wysoko oceniam sposób porównania sekwencji DNA regionów *ITS* z danymi morfologicznymi zaprezentowanymi na rysunku 7 (praca 3), który zapewnia czytelność i przejrzystość rezultatów. Jednakże, w tym przypadku brakuje głębszej dyskusji otrzymanych rezultatów z danymi źródłowymi publikacji Shimai i Kondo (*Chromosome Botany* 2007, 2: 67-77) oraz odniesienia się do sugestii autorów, że w tym przypadku regiony zmienność regionów *ITS* gatunków *Pinguicula* pochodzących z Ameryki Środkowej są raczej związane ze wzorcami biogeograficznymi niż z cechami morfologicznymi.

4. Techniczną uwagą jest brak materiałów dodatkowych (tzw. supplementary materials). Powinny one zostać załączone w rozprawie jako jej nieodłączny element.

Powyższe uwagi nie umniejszają wysokiej wartości naukowej recenzowanej rozprawy doktorskiej. Przedstawiona praca świadczy o wysokim zaangażowaniu Autora w rozwiązanie problemu badawczego i osiągnięcie założonego celu. Stanowi dużą wartość naukową i poszerza wiedzę z zakresu mikromorfologii i anatomii kwiatów gatunków z rodzaju *Pinguicula*.

W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca spełnia wszystkie wymogi ustawowe stawiane rozprawom doktorskim i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr. Krzysztofa Lustofina do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, uwzględniając wysoki poziom naukowy rozprawy wnioskuję o nagrodzenie pracy doktorskiej.

Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
Katedra Chemii  
Zakład Chemii Analitycznej  
  
prof. dr hab. Sławomir Dresler