

Prof. dr hab. Ewa U. Kurczyńska
Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska
Wydział Nauk Przyrodniczych
Uniwersytet Śląski
ul. Jagiellońska 28
40-032 Katowice

Katowice, 24.11.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Aleksandry Elżbiety Słupianek
pt.: „Mechanizmy transportu międzykomórkowego w drewnie wtórnym”

Praca doktorska mgr Aleksandry Elżbiety Słupianek została wykonana na Wydziale Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego, w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin pod promotorstwem Pani dr hab. Katarzyny Sokołowskiej.

Badania, których wyniki zamieszczono w przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej miały na celu scharakteryzowanie, na różnych poziomach organizacji strukturalnej roślin, dróg transportu międzykomórkowego (pęcherzykowego i symplastowego) w miękiszu drzewnym wybranych gatunków drzew liściastych: klonu jaworu (*Acer pseudoplatanus*), jesionu wyniosłego (*Fraxinus excelsior*) oraz mieszańca topoli osiki i topoli amerykańskiej (*Populus tremula x tremuloides*).

Przedstawione przez Doktorantkę badania są logiczną kontynuacją problematyki badawczej, która od wielu lat jest wiodącym tematem realizowanym przez Promotora rozprawy doktorskiej, Panią dr hab. Katarzynę Sokołowską, członka zespołu Zakładu Biologii Rozwoju Roślin.

Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Elżbiety Słupianek, licząca 163 strony, składa się ze streszczenia w języku polskim i angielskim, słów kluczowych, wykazu stosowanych w rozprawie skrótów, wykazu rycin, tabel i tablic, spisu treści, wstępu, celu pracy wraz z hipotezami badawczymi, opisu metodyki, opisu uzyskanych wyników, dyskusji, podsumowania obserwacji i wniosków oraz spisu literatury.

Praca napisana jest poprawnie, układ jest typowy dla prac eksperymentalnych, a treść pracy odpowiada tytułowi rozprawy.

Streszczenie zostało dobrze przygotowane i przedstawia zwięzłą informację o obiekcie badawczym, problematyce badawczej i uzyskanych wynikach. Pragnę zwrócić

uwagę, że włókna niekoniecznie zawsze są martwe, zaś naczynia są martwymi elementami, co nie musi być podkreślane.

Wstęp

Obejmuje 24 strony i jest ilustrowany 7 rycinami. Można w nim wyróżnić trzy główne tematy: charakterystykę drewna wtórnego zarówno pod względem struktury jak i funkcji, opis transportu symplastowego oraz opis procesu endocytozy. Wszystkie części opracowano niezwykle starannie z uwzględnieniem właściwych informacji dotyczących poruszanych w rozprawie doktorskiej problemów badawczych. Z obowiązku recenzenta, poniżej wskazuję na pewne niedociągnięcia tej części rozprawy doktorskiej.

W mojej ocenie kilka podrozdziałów wstępu (na przykład: rola miękiszu drzewnego w eliminacji embolizmu elementów przewodzących, funkcja w zwiększaniu wydajności transportu naczyniami – efekt jonowy, rola w wydzielaniu surfaktantów do elementów przewodzących, rola komórek miękiszu drzewnego w reakcjach obronnych w drewnie wtórnym) są zbędne, jako że nie dotyczą bezpośrednio problemów naukowych realizowanych w ramach rozprawy doktorskiej, tym bardziej, że w pracy analizowano przemieszczanie się substancji w kierunku przeciwnym, czyli od naczynia do miękiszu. Ostatni akapit rozdziału 1.1 – nie wiem dlaczego wspomniano o drzewach długowiecznych? Jakie drzewa miała Autorka na myśli? Przy okazji - Wang, 2020; Fu i wsp., 2021 – obie te prace dotyczą transportu cząsteczek sygnałnych, czyli nie traktują o przyroście w drzewach długowiecznych.

Poza tym proszę o ustosunkowanie się do moich poniższych uwag:

- 1/Jamki kontaktowe – proszę dokładnie omówić, co rozumie Pani pod tym pojęciem.
- 2/Jaka jest różnica między komórkami kontaktowymi i typu VAC (jeśli takowa jest)?
- 3/Proszę objaśnić termin „siła promieniowa” – chodzi o wytrzymałość na ściskanie, rozciąganie? naprężenia ściskające i rozciągające?
- 4/Proszę dokładnie wyjaśnić tę zależność: „... sugeruje się, iż specyficzne obszary mikrodomen w błonie komórkowej, kluczowe dla niektórych typów CIE, odgrywają rolę w regulacji przepuszczalności PD, co z kolei wskazuje na powiązanie transportu pęcherzykowego i symplastowego”.
- 5/Rycina 8 - kolorystyka źle dobrana; trudno odróżnić kolor brązowy od czarnego.

Cel naukowy opisano dokładnie i wskazano 4 hipotezy badawcze (1/transport związków z apoplastu do symplastu w drewnie wtórnym odbywa się na drodze endocytozy; 2) głównym typem endocytozy działającej w drewnie wtórnym jest endocytoza zależna od klatryny; 3) związki pobierane za pośrednictwem endocytozy z naczyń do komórek typu

VAC są rozprowadzane między żywymi komórkami drewna szlakiem symplastowym; 4) udział poszczególnych mechanizmów transportu w pobieraniu i rozprowadzaniu związków w drewnie wtórnym zmienia się sezonowo), które były weryfikowane w ramach pracy doktorskiej.

Materiały i metody

Doktorantka bardzo szczegółowo opisała wszystkie zastosowane metody. Opisano materiał doświadczalny i jego pozyskiwanie. Opisano procedury otrzymania preparatów do analizy w mikroskopie świetlnym i elektronowym oraz drobiazgowo przedstawiono wykorzystane w rozprawie metody molekularne. W tym rozdziale pracy znajdują się trzy ryciny (moim zdaniem rycina 9 i 11 są zbędne) i cztery tabele, które dobrze obrazują wybrane aspekty metodyczne. Rozdział ten pokazuje jak różnorodne metody i techniki zostały wykorzystane w pracy doktorskiej, począwszy od mikroskopii jasnego pola, przez fluorescencyjną, w tym konfokalną, po mikroskopię elektronową, wykorzystanie techniki immunodetekcji zarówno na poziomie mikroskopii świetlnej jak i elektronowej, FRAP, analizy molekularne, LCM (Laser Capture Microdissection) i analizy statystyczne.

W trakcie czytania tego rozdziału pojawiły się pytania i proszę o krótkie odpowiedzi:

- 1/ dlaczego w przypadku jesionu i klonu wykorzystywano drzewa, a w przypadku topoli gałęzie (przy okazji użycie określeń „drzewka” i „gałązki” nie jest profesjonalne);
- 2/ kilkuletnie oznacza – ile lat? I czy zawsze pobierano gałęzie w takim samym wieku?
- 3/ jakie tkanki zawierały fragmenty pobrane do utrwalania? Łyko, kambium i drewno? Czy tylko drewno; ile przyrostów rocznych zawierało się w takim fragmencie?
- 4/ do analiz w TEM pobierano tylko ostatni przyrost roczny? Dlaczego użyto MTSB i żelazocyjanku potasu?
- 5/ dlaczego wybrano dwa barwniki: FM 1-43FX i FM 4-64FX; napisano, że „różnią się długością fali wzbudzającej oraz stopniem hydrofobowości” – dlaczego to było ważne?
- 6/ w czym rozpuszczano barwniki/fluorochromy? Czy podane stężenia były wcześniej sprawdzane w eksperymentach kontrolnych, aby określić właściwą koncentrację, czy też dane są literaturowe?
- 7/ dlaczego stosowano wodę wodociągową?
- 8/ z opisu metodyki wynika, że pobierano fragmenty o długości 3-5 mm i tutaj dwa pytania: a/ czy te fragmenty w trakcie eksperymentu były zanurzone w roztworach? b/ czy sprawdzano jak wysoko przemieszczają się barwniki?
- 9/ proszę o dokładny opis – „Na przekrojach poprzecznych analizowano obszary drewna wtórnego o minimalnej powierzchni 0,4 mm² rozciągające się od rdzenia do kambium” – tak

mała była średnica pędu? „Wzdłuż promieni drzewnych. Każdorazowo do analiz wykorzystywano przekroje z co najmniej dwóch miejsc. Podczas....” Co było kryterium wyboru miejsca?

10/ „....wtórnego, przeliczając liczbę komórek typu VAC z sygnałem fluorescencyjnym pochodzącym z pobranego barwnika na 100 naczyń.” Nie mam pewności czy to dobre kryterium; wszystko zależy od średnicy naczyń; może być wtedy mniej lub więcej komórek.

11/ „Przeprowadzano immunodetekcję na poziomach komórkowym, subkomórkowym i ultrastrukturalnym” – co to poziom subkomórkowy?

12/ czy gliceryna jako środek zamykający nie grozi szybszym wyświeceniem fluorochromu?

13/ „Do opisanej powyżej podstawowej procedury immunolokalizacji w niektórych eksperymentach zastosowano kilka modyfikacji. W przypadku lokalizacji barwników TR, ze względu na ich wyjątkowo szerokie spektrum wzbudzenia, przekroje, zaraz po ich przygotowaniu na wibratomie, poddano działaniu światła UV (Analytic Jena, Upland, CA, USA), aby znacząco obniżyć poziom fluorescencji barwników..” - proszę wyjaśnić na ile taka procedura jest poprawna metodycznie;

14/ niedopuszczalne użycie określenia „nanocząsteczka” zamiast nanocząstka – dlatego proszę o wyjaśnienie różnicy między tymi dwoma określeniami;

15/ dlaczego siateczki kontrastowano tylko w octanie uranylu?

16/ w eksperymentach FRAP – wygaszano fluorescencję z barwnika błonowego – dlaczego?

17/ „Intensywność transportu międzykomórkowego (z naczyń do komórek typu VAC oraz z komórek typu VAC do nonVAC i pomiędzy nonVAC) oceniano analizując przekroje poprzeczne przez drewno wtórne.” – dlaczego analizowano przemieszczanie się fluorochromu błonowego, w kontekście tego co wiemy o istnieniu tratw lipidowych w błonach plazmodesm?

18/ „mikroskopu fluorescencyjnego z białym światłem przechodzącym” – proszę doprecyzować; rozumiem, że do wzbudzania fluorescencji stosowano światło wzbudzające „wycinane” ze światła białego o odpowiednich długościach fal świetlnych wykorzystując stosowne filtry;

19/ „Profile przekrojów przez drewno wtórne wykorzystywane do analiz intensywności transportu do komórek typu VAC oraz...” – co rozumieć pod określeniem „profile”?

20/ zastosowanie BSA jako markera transportu pomiędzy wyszczególnionymi kompartmentami jest ciekawe – chciałabym się dowiedzieć, co stanowiło kryterium tego wyboru? Masa cząsteczkowa i średnica? BSA ma średnicę 7,2 nm, czyli chyba większą niż pory w ścianie? Czy wybór podyktowany był chęcią sprawdzenia również tego parametru?

Wszystkie powyższe pytania/uwagi mają tylko na celu zaspokoić moją ciekawość badacza i eksperymentatora. Pragnę zwrócić uwagę, że zakres stosowanych metod badawczych był bardzo szeroki, co na pewno utrudniało precyzyjny ich opis.

Wyniki

Wyniki są opatrzone 23 tablicami (z czego większość to fotografie obrazujące uzyskane rezultaty), 5 wykresami oraz 5 tabelami. Należy podkreślić, że dokumentacja zdjęciowa jest doskonałej jakości i dobrze ilustruje uzyskane wyniki.

W pierwszej kolejności, zgodnie z logiką badań, przeanalizowano budowę histologiczną drewna *A. pseudoplatanus*, *F. excelsior* i *P. tremula x tremuloides*, wykorzystując w tym celu szczegółową analizę preparatów na poziomie mikroskopu świetlnego stwierdzając, że analizowany materiał ma budowę typową dla okrytonasiennych roślin drzewiastych, co stanowiło właściwy punkt wyjściowy do dalszych analiz. Przeprowadzone analizy pozwoliły dokładnie scharakteryzować miękisz drewna dla każdego z tych gatunków i wskazać lokalizację komórek miękiszowych ze względu na pełnione przez nie funkcje, czyli komórek bezpośrednio sąsiadujących z naczyniami (VAC vessel associated cells) i tych, które określa się mianem nonVAC, a są komórkami miękiszowymi, które nie kontaktują się bezpośrednio z naczyniami. Te analizy prowadzono z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej i elektronowej. Na poziomie ultrastrukturalnym analizowano nie tylko organelle charakterystyczne dla tych dwóch typów komórek miękiszowych, ale także budowę ścian ze szczególnym uwzględnieniem jamek.

Określono również żywotność komórek w preparatach, które analizowano ze względu na przemieszczanie się różnego rodzaju fluorochromów, co jest jak najbardziej uzasadnione. Badania te prowadzono z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej.

Następnie przeprowadzono szereg analiz sprawdzających możliwości przemieszczania się związków wysokocząsteczkowych z naczyń do komórek typu VAC. Badania te wykazały, że związki wysokocząsteczkowe znajdują się zarówno w komórkach VAC jak i nonVAC, co oznacza, że pobieranie takich związków z apoplastu (czyli w tym przypadku z naczyń) do komórek żywych, jakimi są komórki miękiszowe zachodzi z powodzeniem. Stwierdzenie występowania zastosowanych fluorochromów w kompartmentach wewnątrzkomórkowych sugerowało, że w proces pobierania substancji z soku ksylemowego zaangażowana może być endocytoza. Następnie przeprowadzono szereg, logicznie zaprojektowanych analiz (wykorzystano różnego rodzaju inhibitory właściwe dla analizowanych procesów - na przykład immunodetekcję białek klatrynowych, flotyliny, transporterów błonowych) w celu określenia, czy endocytoza uczestniczy w pobieraniu substancji z soku ksylemowego i jeśli

tak, to czy jest to endocytoza zależna, czy niezależna od klatryny. Zastosowano immunodetekcję różnych białek, które są markerami poszczególnych rodzajów endocytozy, a uzyskane wyniki dobrze udokumentowano. Po stwierdzeniu, że substancje mogą być pobierane z soku ksylemowego do komórek miękiszowych na drodze endocytozy, postanowiono sprawdzić, czy dalsze (do innych komórek miękiszowych drewna) przemieszczanie się substancji w obrębie drewna może zachodzić symplastem. W tym celu wykonano analizy z wykorzystaniem techniki FRAP, i stwierdzono, że możliwy jest transport barwnika błonowego pomiędzy żywymi komórkami miękiszu drzewnego w analizowanych gatunkach. Dokonano również analizy przemieszczania się 3 kDa związku między komórkami miękiszowymi i wykazano, że transport poprzez PD może zachodzić, a badania te prowadzono również z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej, gdzie zastosowano złoto koloidalne do detekcji analizowanej substancji na terenie cytoplazmy.

Badania obejmowały również analizę przemieszczania się barwnika błonowego między komórkami drewna wtórnego w różnych porach sezonu wegetacyjnego. Wykazano, że transport ten podlega sezonowym zmianom.

Wszystkie przedstawione wyniki są dobrze udokumentowane. Większość rozdziałów opisujących wyniki jest zakończona krótkim podsumowaniem, co uważam za niezwykle cenne.

Należy zaznaczyć, że podjęte przez Doktorantkę analizy były pionierskie przede wszystkim ze względu na problemy badawcze.

Przeprowadzone badania, zaplanowane w logiczny sposób, pozwoliły Doktorantce na uzyskanie szeregu nowatorskich wyników, a podsumowując przedstawione wyniki, za ważne ustalenia pracy uważam:

1/wykazanie, że endocytoza jest mechanizmem uczestniczącym w pobieraniu substancji z naczyń do komórek miękiszowych,

2/wskazanie, że w tym procesie zaangażowana jest endocytoza, w tym endocytoza zależna od klatryny,

3/zidentyfikowanie szeregu specyficznych białek, których do tej pory nie opisano dla błon komórek w drzewach,

4/powiązanie sezonowej aktywności drzew z mechanizmami uczestniczącymi w pobieraniu substancji z apoplastu do symplastu,

5/dostarczenie eksperymentalnych dowodów na współdziałanie dwóch systemów symplastu i apoplastu w koordynacji wymiany substancji między komórkami drewna.

Moje uznanie dla przeprowadzonych badań jest bardzo duże, ale mimo to mam kilka pytań do opisu wyników:

- 1/w jaki sposób obliczono, że włókna są najliczniejsze w drewnie analizowanych gatunków?
- 2/co to jest promień geometryczny?
- 3/ tablica 2 fig. I, H: na fig. I wskazano jamkę kontaktową, ale trudno dostrzec szczegóły na tak małym powiększeniu; dlaczego na zdjęciu I warstwa amorficzna jest elektronowo-jasna, a na zdjęciu H elektronowo-gęsta?
- 4/określenie jamki kontaktowe pojawia się w literaturze u van Bell'a w 1990; inni badacze wskazują, że są to jamki proste – proszę o krótki komentarz;
- 5/tab. 3 – czym wytłumaczyć tak małą liczbę komórek z sygnałem u topoli?
- 6/tab.4 – brak informacji, że niektóre zdjęcia pokazują ten sam obraz w mikroskopie konfokalnym i połączenie obrazu z tego mikroskopu i jasnego pola (np. A, B, G, I);
- 7/dlaczego znaczników fluorescencyjnych, na przykład TR, nie widać w naczyniach? Przecież powinien być widoczny sygnał, jeśli fluorochrom dostawał się z naczyń do komórek np. VAC?
- 8/ opis pod fig. 4 „Białymi strzałkami zaznaczono barwnik fluorescencyjny zlokalizowany w jamkach kontaktowych, a żółtymi strzałkami w jamkach prostych.” – czy mam rację, że chodzi o obecność w ścianie?
- 9/ tablica 5 J – czy fluorochrom widać w ścianie między naczyniami?
- 10/ czy pobieranie znaczników zachodzi tylko z naczyń?
- 11/ pierwszy akapit rozdziału 4.6 – zbędny, do wstępu lub dyskusji;
- 12/ tablica 9 dlaczego kolor TR jest niebieski?
- 13/ „sygnał fluorescencyjny pochodzący od barwnika błonowego był głównie obecny w ścianach komórkowych elementów przewodzących” – proszę objaśnić jak to możliwe?
- 14/ Czy jest możliwe, że barwniki dostawały się do komórek przez podsiąkanie?

Dyskusja liczy 14 stron wydruku komputerowego i jest podzielona na stosowne podrozdziały, co znacznie ułatwia śledzenie diskutowanych problemów. Doktorantka właściwie przedyskutowała uzyskane przez siebie wyniki. Pokazała, że dobrze jest obeznana z literaturą zarówno starszą, jak i aktualną, i posiada umiejętność obiektywnego porównywania uzyskanych przez siebie wyników z danymi literaturowymi. Doktorantka kolejno dyskutowała, w sposób zrozumiały i kompetentny, uzyskane przez siebie wyniki w związku z postawionymi na wstępie hipotezami badawczymi. Szczegółowo przedyskutowano takie problemy jak: endocytoza jako mechanizm zaangażowany w pobieranie substancji w kierunku od naczynia do komórki miękkiszowej, drewno wtórne

jako miejsce funkcjonowania różnych typów endocytozy - zależnych i niezależnych od klatryny, transport międzykomórkowy (symplastowy) w systemie miękiszu drzewnego związków pobranych z naczyń na drodze endocytozy oraz sezonowa zmienność w intensywności i udziale poszczególnych mechanizmów transportowych w drewnie.

Uzyskane wyniki i ich dyskusja, jak to bywa w nauce, rodzą kolejne pytania, i takie również pojawiły się u mnie. Proszę o krótką dyskusję poniższych aspektów.

1/Uzyskane wyniki wskazują, że istotnie, w proces pobierania substancji z naczyń może być zaangażowana endocytoza z udziałem pęcherzyków opłaszczonych klatryną. To stwierdzenie jest niezwykle ciekawe, szczególnie w świetle tego co wiemy o endocytozie zależnej od klatryny, że jest to proces ściśle regulowany, aby do komórki dotarły właściwe substancje. Jakże może być wytłumaczenie, że w pobieranie związków zupełnie obcych dla komórek (jakie zostały wykorzystane w badaniach), ten typ endocytozy został uruchomiony?

2/ W związku ze stwierdzeniem Doktorantki: „wielkocząsteczkowe związki, po internalizacji z naczyń do komórek typu VAC, zostają wbudowane w system endomembranowy, a następnie przetransportowane do sąsiadujących komórek przez desmotubulę obecną w PD.” Proszę zaproponować mechanizmy, które uczestniczą w takim procesie z uwzględnieniem moich pytań: a/dlaczego związki wielkocząsteczkowe miałyby być wbudowywane w błonę? Jaki mechanizm tego procesu musiałby zaistnieć? Jeśli już założymy, że zostały wbudowane w błonę, to jaka jest dalsza droga? Autorka pisze, że przez desmotubulę – tutaj pojawia się kolejne pytanie - przez jej światło czy w błonie? gdyby rozważyć transport we wnętrzu desmotubuli – musiałby dany związek najpierw dostać się do światła ER – proszę omówić ten aspekt; jeśli błona – to musi być mechanizm pozwalający na wbudowanie danego związku w błonę ER; w jaki sposób może dochodzić do takiej sytuacji? Czy w dalszych badaniach należy poszukiwać odpowiednich znaczników pęcherzyków endocytarnych kierujących je odpowiednich kompartmentów?

3/„...fluorescencyjny sygnał pochodzący od podawanych znaczników zlokalizowany był nie tylko w świetle naczyń, ale przede wszystkim w komórkach typu VAC” – proszę wyjaśnić jak może być widoczny barwnik w naczyniach, a chodzi o te fluorochromy typu FM, skoro fluorescencja pojawia się dopiero po związaniu z błoną? Poza tym na Fig. 5 nie widać, aby fluorochrom był w naczyniach.

4/„...stwierdzono transportu barwnika LYCH z naczyń do komórek typu VAC (Tabl. 11), tym samym wykluczając zaangażowanie endocytozy fazy płynnej w pobieranie związków z apoplastu do symplastu.” – to zdanie przeczy opisanym wynikom i dokumentacji zdjęciowej; rozumiem, że chodziło w stwierdzenie, że nie jest to główny rodzaj endocytozy.

5/,...BSA nie wymaga pęcherzyka opłaszczonego klatryną, aby zostać pobranym z apoplastu do symplastu, wskazując jednocześnie na zaangażowanie mechanizmu niezależnego od klatryny w internalizację BSA do komórek typu VAC.” Jaki mechanizm może wchodzić w grę? Napisano, że prawdopodobnie endocytoza niezależna od klatryny. Czy zatem wielkość cząsteczki, w przypadku BSA (7,2 nm) może mieć znaczenie wyboru drogi internalizacji?

„Podsumowanie obserwacji i wnioski” to rozdział, w którym dokonano podziału na: podsumowanie obserwacji i wnioski, co jest godne podkreślenia. Wnioski wskazane przez Doktorantkę są w pełni uzasadnione. We wniosku 1, może warto dodać, że uzyskane wyniki potwierdzają, przynajmniej dla *Acer pseudoplatanus*, wyniki Czaninskiego (1072).

Literatura

Wykaz cytowanej literatury obejmuje 282 pozycje. Muszę przyznać, że wyjątkowo rzetelnie został przygotowany ten rozdział rozprawy, chociaż i tutaj znalazły się niedociągnięcia, wypunktowane poniżej:

- 1/ dziwna cytacja _ Wojtaszek, P., Woźny, A., Ratajczak, L., & Guzicka, M. (2012). Biologia komórki roślinnej?
- 2/ dziwna cytacja – nie wiadomo, który rozdział podręcznika ma Doktorantka na myśli Hejnowicz, Z., Wojtaszek, P., Woźny, A., Ratajczak, L., Jackowski, G., Jarmuszkiewicz, W., Kasprówicz-Maluski, A., Maluszynska, J., Rychter, A., Szweykowska-Kulinska, Zofia, Tretyń, A., Trebacz, K., Zagłbska-Marek, B., & Wydawnictwo Naukowe PWN. (2015). Biologia komórki roślinnej. T. 2. Wydawnictwo Naukowe PWN. roślinnej. T. 1. Wydawnictwo Naukowe PWN.
- 3/ w tekście jest Evert, 2006 a powinno być Evert i wsp. 2006 (Evert, R. F., Esau, K., & Esau, K. 2006). Esau's Plant anatomy: Meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development (3rd ed). Wiley-Interscience.
- 4/ brak w tekście - Guo, J., & Yang, Z. (2020). Exocytosis and endocytosis: Coordinating and fine-tuning the polar tip growth domain in pollen tubes. Journal of Experimental Botany, 71(8), 2428–2438. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa134>

Powyższe uwagi w niczym nie umniejszają znaczenia rozprawy doktorskiej mgr. Aleksandry Słupianek. Pragnę podkreślić, że należy je traktować jako podstawę do dyskusji oraz jako wyraz troski o jeszcze lepszą formę opracowania wyników do przyszłych publikacji.

Należy stwierdzić, że we wstępie oraz w wynikach, Doktorantka powołuje się na dwie prace, których jest współautorką. Ponieważ są odnośniki do wspomnianych publikacji, to nie doszło do naruszenia licencji CC-BY (uznanie autorstwa), dlatego użycie w rozprawie doktorskiej rycin/wyników oraz ich modyfikacje są dopuszczalne. Tym bardziej, że Doktorantka w publikacji „Xylem Parenchyma—Role and Relevance in Wood Functioning in Trees” pełniła wiodącą rolę w przygotowaniu publikacji. W drugiej pracy - „Endocytosis acts as transport pathway in wood”, Doktorantka przeprowadziła eksperymenty z podawaniem znaczników, analizy immuno i mikroskopowe oraz współuczestniczyła w pisaniu publikacji. W obu pracach była pierwszą autorką, co należy podkreślić.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Słupianek stanowi samodzielne rozwiązanie problemu badawczego przy użyciu adekwatnej metodyki badań, co jest ustawowym wymogiem stawianym rozprawom doktorskim. Nie mam wątpliwości, że w swojej rozprawie Pani mgr Aleksandra Słupianek podjęła istotny problem badawczy oraz przedstawiła w sposób satysfakcjonujący jego rozwiązanie. Biorąc pod uwagę wszystkie aspekty przedłożonej mi do recenzji rozprawy doktorskiej pragnę stwierdzić, że wysoko oceniam przedstawioną mi do oceny pracę oraz, że spełnia ona warunki wymagane dla rozpraw doktorskich zawarte w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresu sztuki (Dz.U. 2003r. Nr 65, poz.595 z późn. zmi.).

W związku z tym stawiam wniosek do Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenia Pani mgr Aleksandry Słupianek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoką wartość rozprawy i oryginalność zaprezentowanych wyników wnioskuję o jej wyróżnienie stosowną nagrodą.

Z poważaniem


Prof. dr hab. Ewa U. Kurczyńska