

Prof. dr hab. Szczepan Biliński
Zakład Biologii Rozwoju i Morfologii Bezkręgowców,
Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński,

OCENA

rozprawy doktorskiej Pana mgr **Karola Żłobińskiego** zatytułowanej:

*Różnicowanie nabłonka folikularnego w politroficznych jajnikach wybranych przedstawicieli
motyli (Lepidoptera) i chruścików (Trichoptera)*

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest szczegółowym i w miarę wyczerpującym opisem procesu morfogenezy i dywersyfikacji (tj. różnicowania na subpopulacje) nabłonka folikularnego (komórek somatycznych pozostających w bezpośrednim kontakcie z oocytem i komórkami odżywczymi) 5 gatunków motyli i 5 gatunków chruścików, reprezentujących rozmaite rodziny tych rzędów owadów. Należy w tym miejscu podkreślić, iż analizy procesu dywersyfikacji nabłonka folikularnego owadów są stosunkowo nieliczne. Genetyczne i molekularne aspekty tego procesu zostały poznane dzięki serii znakomitych publikacji wykonanych na gatunku modelowym, muszce owocowej, *Drosophila melanogaster*. Badaniami porównawczymi objęto inne muchówki, a także sieciarki, skorki i wojsilki. Większość badań porównawczych, co warto podkreślić, wykonano bądź w Zakładzie Biologii Rozwoju Zwierząt Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego, bądź w Zakładzie Biologii Rozwoju i Morfologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Efekty tych badań (czyli liczne publikacje) doskonale pokazują wieloletnią współpracę wymienionych jednostek naukowych. Publikacje te przyczyniły się do uogólnienia wyników badań gatunku modelowego, a także do wyciągnięcia wniosków o charakterze filogenetycznym. W tym świetle zarówno wybór tematyki recenzowanej rozprawy, jak i wybór materiału do badań należy uznać za wyjątkowo trafny. W rezultacie

rozprawa dostarcza nowych, bardzo cennych danych do wiedzy o przebiegu dywersyfikacji nabłonka folikularnego owadów, a także - w szerokiej perspektywie - o mechanizmach różnicowania tkanki nabłonkowej. Tekst rozprawy napisany jest dość poprawnie. Opisy struktur komórkowych oraz zachodzących procesów nie budzą poważniejszych wątpliwości. Niestety, w mojej opinii uzyskane wyniki nie zostały właściwie wykorzystane (patrz dalej). Niektóre ciekawe obserwacje (np. występowanie tzw. jąderek wielokrotnych w komórkach odżywczych motyli) nie zostały omówione, choćby wspomniane, w rozdziale *Dyskusja*. Pytania prowokuje również interpretacja niektórych struktur i procesów toczących się na poziomie komórkowym (patrz dalej).

Metody użyte w czasie wykonywania rozprawy są prawidłowe i nowoczesne. Materiał analizowano w mikroskopie fluorescencyjnym, konfokalnym i transmisyjnym mikroskopie elektronowym. Wszystkie zaprezentowane ilustracje są dobre lub wręcz doskonałe. Bardzo dobrze uzupełniają one tekst rozprawy. Zwracają uwagę piękne elektronogramy oraz ciekawe obrazy uzyskane przy pomocy mikroskopu konfokalnego. Staranne i cenne są również schematy zamieszczone wprost w tekście pracy. Schematy te, ukazujące morfologię jajników i budowę pęcherzyków jajnikowych, pomagają śledzić wywód doktoranta bez konieczności ciągłego przewracania stron i odszukiwania odpowiednich tablic z mikrofotografiami.

Myślę, że recenzowana rozprawa (naturalnie po opublikowaniu w dobrym czasopiśmie z listy JCR) ma szansę na stałe wejść do literatury światowej - jest bowiem pierwszym wnikliwym i w miarę kompletnym studium morfogenezy nabłonka folikularnego *Amphiesmenoptera*. Dotychczasowe badania tego procesu były dość fragmentaryczne, dotyczyły tylko motyli i nie przyniosły jego pełnego obrazu.

Do najważniejszych osiągnięć rozprawy doktorskiej Pana mgr Karola Żłobińskiego zaliczam:

- Porównanie budowy jajników i przebiegu morfogenezy nabłonka motyli pierwotnych

(Micropterygidae: *Micropteryx calthella*) oraz chruścików zaliczanych do rodziny Polycentropodidae (*Polycentropus irroratus*). Porównanie to dostarczyło kolejnych argumentów potwierdzających bliskie pokrewieństwo motyli i chruścików;

- Szczegółowy opis kolejnych faz morfogenezy i dywersyfikacji nabłonka folikularnego w jajnikach badanych gatunków; wyróżnienie 5 morfologicznie (i prawdopodobnie funkcjonalnie) odrębnych subpopulacji tego nabłonka;
- Opis powstawania cyst komórek płciowych, a także mostków międzykomórkowych łączących te komórki (cystocyty) oraz fuzomów (polifuzomów) wypełniających mostki. Wymienione struktury zostały pięknie pokazane na mikrofotografiach Tablicy II. Szkoda jedynie, że towarzyszący im (w rozdziale Wyniki) opis jest wyjątkowo lakoniczny; oraz,
- Opis mostków międzykomórkowych łączących komórki folikularne *Smerinthus ocellatus*.

Dostrzeżenie błędów i nieścisłości należy do obowiązków recenzenta. Odnotuję więc w tym miejscu parę uwag krytycznych, zaznaczając, że nie obniżają one mojej opinii o rozprawie.

- Wątpliwości budzi interpretacja mikrofotografii XI. 1 (Tablica XI fot. 1). Wg. Autora mikrofotografia ta ukazuje komórki centrypetalne (jedna z nich znajduje się w stadium anafazy). Nie jestem pewien czy interpretacja ta jest poprawna. Czy nie są to komórki stylika międzypęcherzykowego? Por. np. fot. 5 Tablica XXVII; fot 3. Tablica XIII.
- Na stronach 33 i 34 (także na kilku rycinach) użyty został termin „komórka baldaszkowata”. Nie bardzo rozumiem ten termin. Komórki określone tym terminem to przecież zwykłe komórki folikularne których apikalne części są uwypuklone i „zagłębione” w cytoplazmę oocytu. Komórki takie zostały opisane już wielokrotnie w rozmaitych grupach owadów.

- Na stronie 28 znajduje się następująca informacja: „...komórki łuskowate ściśle przylegają częściami apikalnymi do powierzchni komórek odżywczych, tworząc z trofocytami liczne połączenia typu mechanicznego (nie pokazano).” To bardzo ciekawa obserwacja; wskazuje ona że pomiędzy komórkami łuskowatymi a komórkami odżywczymi występują *heterocellularne* połączenia międzykomórkowe. O ile wiem, połączenia takie nigdy dotychczas nie zostały opisane. Dlaczego tej ciekawej obserwacji nie wykorzystano?
- W rozdziale nr 5 (zatytułowanym Podsumowanie) doktorant przedstawia następujący wniosek: (7) „U motyli i chrzączek tylko subpopulacja komórek centrypetalnych posiada zdolność do aktywnej migracji w obrębie komory jajowej”. Niestety, w mojej opinii, w pracy nie przedstawiono dowodów na istnienie takiej migracji. Prawie wszystkie mikrofotografie ilustrujące komórki centrypetalne (np. fot. 2-4 Tablica XX; fot. 2 Tablica XXIV; fot. 1 i 3 Tablica XXVI) wskazują, że komórki te raczej zmieniają kształt i wydłużają się (rozciągają się) centrypetalnie, penetrują przestrzeń pomiędzy oocytem a towarzyszącymi mu komórkami odżywczymi, **zachowując** kontakt z blaszką podstawną otaczającą owariolę. Zwracam przy tym uwagę, iż brak kontaktu komórki centrypetalnej z tą blaszką na *konkretnym zdjęciu (przekroju)* nie może być dowodem na rozpoczęcie migracji. Brak takiego kontaktu może wynikać wyłącznie z nieregularnego kształtu i silnego rozciągnięcia komórki. Mikrofotografie, a zwłaszcza elektronogramy należy interpretować pamiętając, iż uzyskane obrazy to zdjęcia niesłychanie cienkich skrawków, które bardzo rzadko ukazują rzeczywistą przestrzenną (trójwymiarową) organizację analizowanej komórki lub tkanki. Obecność wspinał się rozwiniętych stref przylegania pomiędzy komórkami centrypetalnymi (fot. 2. Tablica XI) potwierdza moją opinię. Przecież strefy te związane są właśnie ze zmianą kształtu komórki – pisze o tym również Autor (strony

61/62). Tak więc, informacja zamieszczona w rozdziale Dyskusja na stronie 59, cyt. „Wyniki uzyskane...potwierdzają obecność migrujących komórek centrypetalnych...” i dalej „Komórki centrypetalne podczas przemieszczania się w kierunku mostków cytoplazmatycznych tracą kontakt z blaszką podstawną.” nie została właściwie udokumentowana i z całą pewnością wymaga dalszych badań..

Podsumowując rozprawę doktorską Pana mgr **Karola Żłobińskiego** oceniam jako bardzo dobrą. Wnosi ona nowe dane do wiedzy o przebiegu oogenezy owadów; spełnia także wszystkie wymagania stawiane przez Ustawę o stopniach i tytułach naukowych. Wymienione w recenzji uwagi dotyczące interpretacji w żaden sposób nie obniżają wartości rozprawy. **Na tej podstawie stawiam wniosek o dopuszczenie Pana mgr Karola Żłobińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Kraków, 26.01. 2016

Prof. dr hab. Szczepan Biliński

członek korespondent PAN