

Poznań, 29 lipca 2016 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ PANI MAGDALENY WRÓBLEWSKIEJ ZATYTUŁOWANEJ:

„MECHANIZMY I PRZEBIĄGI ZMIENNOŚCI FENOTYPOWEJ U WYBRANYCH PRZEDSTAWICIELI RODZAJU *MAGNOLIA*”

Gwałtowny i szybki rozwój molekularnej biologii komórki, czy też wykorzystanie narzędzi molekularnych spowodowały, że współczesną biologię zdominowało podejście redukcjonistyczne. W konsekwencji coraz mniej zdajemy sobie sprawę z istnienia XIX-wiecznej dychotomii między poznaniem redukcjonistycznym a holistycznym. W biologii najbardziej wyrazistym jej przejawem były chyba różnice pomiędzy teorią komórkową a organizmalną. Dopiero od niedawna rozwój biologii systemów umożliwił quasi-holistyczne spojrzenie na wiele zjawisk biologicznych. Dzięki temu wiele różnych grup badawczych może zacząć porozumiewać się jednym językiem zrozumiałym dla wszystkich. W biologii roślin znakomitym przykładem takiego spotkania różnych podejść poznawczych są problemy kształtowania się architektury roślin w rozwoju ontogenetycznym, jak również integracji strukturalnej i funkcjonalnej roślin na wszystkich poziomach organizacji hierarchicznej, w tym również na poziomie populacyjnym, czy ewolucyjnym. Na tak szerokim tle umieściłbym przedstawioną do recenzji pracę doktorską Pani mgr Magdaleny Wróblewskiej. Została ona wykonana w Zakładzie Biologii Rozwoju Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Beaty Zagórskiej-Marek jako promotora i dr Alicji Dołzbłasz jako promotora pomocniczego. Praca jest ściśle związana z głównym nurtem badań Zespołu dotyczących zmienności morfologicznej roślin, ale, co szczególnie cenne, wprowadza do nich istotny element nowości, jakim jest spojrzenie redukcjonistyczne wykorzystujące narzędzia biologii molekularnej.

OPIS FORMALNY ROZPRAWY

Recenzowana praca została przedstawiona w formie maszynopisu w języku polskim, przygotowanym w układzie typowym dla prac doktorskich z zakresu biologii doświadczalnej. We Wstępie przekazano Czytelnikowi zestaw najistotniejszych informacji dotyczących 1) podstawowych przyczyn zmienności fenotypowej; 2) magnoliidów jako przedstawicieli pierwotnych roślin okrytonasiennych; a także 3) zmienności między- i wewnątrzgatunkowej na przykładzie: a) budowy kwiatu, b) filotaksji i c) budowy drewna wtórnego. Wstęp prowadzi do krótkiego rozdziału zarysującego główne cele rozprawy. W następnych dwóch rozdziałach zostały opisane wykorzystane materiały i stosowane metody. Uzyskane wyniki oraz ich dyskusja zostały zawarte w kolejnych dwóch rozdziałach. Wyodrębnioną częścią jest podsumowanie uzyskanych rezultatów. Rozprawa jest poprzedzona streszczeniami w języku polskim i angielskim, a zamykają ją: wykaz używanych skrótów, spis publikacji własnych oraz obszerne zestawienie cytowanej literatury. Rozprawie towarzyszą również załączniki, w których przedstawiono listę wykorzystanych w pracy starterów oraz sekwencje kodujące zidentyfikowanych genów z *Magnolia acuminata*.

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań
tel. +48 61 829 5972, kom. +48 666 384 066, fax. +48 61 829 5949
przemow@amu.edu.pl



OCENA MERYTORYCZNA ROZPRAWY

Przedstawiona do recenzji rozprawa jest, zgodnie z moim rozumieniem, próbą szczegółowej analizy wybranych przejawów zmienności morfologiczno-anatomicznej na poziomie osobniczym oraz międzygatunkowym w obrębie rodzaju *Magnolia*. Dla realizacji tak zarysowanego celu Doktorantka skupiła się na trzech aspektach: 1) zmienności budowy kwiatu w obrębie rodzaju; 2) zmienności filotaksji u wybranych osobników *Magnolia acuminata*; oraz 3) zmienności w budowie drewna wtórnego u przedstawicieli 13 gatunków aklimatyzowanych w Polsce. Do realizacji badań Doktorantka wykorzystwała nie tylko klasyczne techniki biologii rozwoju roślin, czy biologii komórki roślinnej, ale również szeroką gamę narzędzi molekularnej biologii komórki. Muszę od razu przyznać, że umiejętności doświadczalne Pan Magdaleny Wróblewskiej oceniam wysoko.

Pierwszym z zadań było przyjrzenie się zmienności budowy kwiatów u kilku gatunków z rodzaju *Magnolia*. Doktorantka wybrała *M. sieboldii* jako gatunek charakteryzujący się kwiatami o budowie typowej dla rodzaju, a zmienność budowy kwiatów analizowała porównawczo u przedstawicieli trzech innych gatunków: *M. acuminata*, *M. liliiflora* i *M. stellata*. O ile badania morfologiczno-anatomiczne nie przyniosły zbyt wielu nowych informacji, o tyle badania z wykorzystaniem narzędzi biologii molekularnej można uznać za bardzo znaczące. Szczególnie interesujące okazały się analizy wzorów ekspresji genów z rodziny MADS odpowiedzialnych za nadawanie tożsamości poszczególnym elementom okwiatu. Sukcesem okazało się klonowanie genów homologicznych do genów MADS zidentyfikowanych u *Arabidopsis thaliana*. Dzięki temu można było określić genetycznie tożsamość poszczególnych okółków okwiatu, a w szczególności przypisać właściwą tożsamość działkom kielicha i płatkom korony, także u *M. stellata*, u którego to gatunku występują dodatkowe elementy okwiatu w układzie spiralnym. Dodatkowo, wykorzystanie technik genetycznych umożliwiło potwierdzenie funkcjonowania genu *MstAGL6* jako genu klasy A w klasyfikacji modelu ABC.

Drugim z badanych przejawów zmienności morfologiczno-anatomicznej była zmienność wewnątrzgatunkowa wzoru filotaktycznego ułożenia elementów generatywnych u różnych osobników *M. acuminata*. Choć najczęściej przyjmuje się, że filotaksja jest swoistą i raczej stałą cechą danego gatunku, to wcześniej już pojawiały się sugestie, że tego rodzaju zmienność może pojawiać się u roślin z rodzaju *Magnolia*. Aby to zweryfikować doświadczalnie Doktorantka zanalizowała wzory filotaktyczne u 11 osobników *M. acuminata* rosnących na różnych stanowiskach na Dolnym Śląsku. W wyniku badań stwierdziła występowanie 14 różnych wzorów filotaksji, charakteryzujących się 19 odmianami ekspresji. Wartym zauważenia jest określenie zróżnicowania dla poszczególnych osobników, gdyż częstość występowania różnych wzorów była swoista dla każdego badanego osobnika. To skłoniło Doktorantkę do pójścia w analizach o krok dalej, a mianowicie do rozpoczęcia badań trwałości stwierdzonego zróżnicowania filotaksji. W tym celu przebadła w dwóch kolejnych sezonach zmienność wzorów filotaksji u czterech osobników. Powtarzalność wzorów wykryła u trzech z nich, co stanowi dobrą podstawę wyjściową do dalszych badań w tym zakresie, zwłaszcza długoterminowych i obejmujących większą liczbę osobników.

Badania zmienności międzygatunkowej w rodzaju *Magnolia* zostały dodatkowo poszerzone o analizy budowy drewna wtórnego u 36 przedstawicieli 13 gatunków magnolii aklimatyzowanych w Polsce. Doktorantka stwierdziła występowanie swoistego gatunkowo układu jamek oraz wzoru perforowania płyt członów naczyniowych. Ciekawą obserwacją była również identyfikacja występowania modyfikacji strukturalnych w obrębie płyt perforacyjnych, choć ich występowanie było dość rzadkie.

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań
tel. +48 61 829 5972, kom. +48 666 384 066, fax. +48 61 829 5949
przemow@amu.edu.pl



Jakość rozprawy i opisanych w niej doświadczeń można oceniać w różny sposób. Osobiście mogę stwierdzić, że rozprawę czytałem z dużym zainteresowaniem, uznając ją w wielu miejscach za inspirującą do dalszych przemyśleń. W pracy pojawiają się jednak momenty, które chciałoby się przedyskutować na żywo, lub takie, które można uważać za drobne potknięcia. Chciałbym wskazać niektóre z nich i porozmawiać o nich w trakcie obrony rozprawy doktorskiej.

DYSKUSJA PRZEDSTAWIANYCH ZAGADNIENI LITERATUROWYCH

- Trudno mi się zgodzić w pełni z przedstawioną na str. 14 definicją plastyczności fenotypowej w postaci sformułowania: „...zróżnicowana, w zależności od warunków środowiskowych, odpowiedź morfogenetyczna rośliny”. Plastyczność fenotypowa ma znacznie szerszy zakres i dotyczy wszystkich aspektów funkcjonowania organizmu, na wszystkich poziomach organizacji hierarchicznej. W odniesieniu do zwierząt dość często do plastyczności fenotypowej jest włączane zjawisko uczenia się, czy pamięci osobniczej, a nie mają one związku ze zmianami morfogenetycznymi.
- Trochę żałuję, że Autorka, opisując model ABC, nie wykorzystała szansy, by szerzej spojrzeć na koncepcje morfogenów i pola morfogenetycznego u wielu grup organizmów. Umożliwiłoby to umieszczenie omawianego modelu roślinnego na znacznie szerszym tle. Autorka, omawiając koncepcję filotaksji, przywołała nawet wielkiego matematyka – Alana Turinga, ale w tym miejscu szczególnie zabrakło modelu francuskiej flagi Lewisa Wolperta, o dziesięciolecie poprzedzającego model ABC. Prosiłbym wobec tego, by w trakcie obrony Doktorantka odniosła się do wspomnianego szerszego kontekstu modelu ABC.
- Nieco podobna uwaga dotyczy opisu mechanizmów leżących u podstaw zjawiska filotaksji. Pośród wielu wymienionych zabrakło mi koncepcji Paula Greena, który wskazywał na znacznie sił fizycznych, głównie mechanicznych, działających w obrębie wierzchołka wzrostu. Autorka słusznie przywołuje doświadczenia zespołu Chrisa Kuhlemeiera, a to właśnie ten zespół odwoływał się bezpośrednio do koncepcji Greena jako podstawy teoretycznej wykonanych eksperymentów.
- Jako osoba przez lata zajmująca się ścianami komórkowymi roślin wolałbym tego nie robić, ale niestety muszę stwierdzić, że rozdział 1.5 znacznie zyskałby na jakości, gdyby nie było w nim podrozdziału opisującego mechanizm powstawania płyty perforacyjnej w członach naczyń. Cechuje go nagromadzenie tylu błędów, że efektem jest jedynie zaciemnienie, a nie rozjaśnienie obrazu.

DYSKUSJA MERYTORYCZNA UZYSKANYCH WYNIKÓW I ICH INTERPRETACJI

- Najważniejszym, w mojej opinii, osiągnięciem pracy jest określenie ekspresji wybranych genów homeotycznych w różnych częściach kwiatów magnolii. Autorka dyskutując te wyniki odwołuje się oczywiście do modelu ABC i stwierdza m.in. „Zaproponowane w literaturze jego różne modyfikacje pozwalają dość dobrze wyjaśnić różnorodność fenotypową poszczególnych grup roślin. Wydaje się więc, że to właśnie różnice w ekspresji genów należących do tego modelu, doprowadziły w efekcie do dużego zróżnicowania fenotypowego kwiatów.” Mam wrażenie, że Doktorantka nie do końca rozróżnia w tym przypadku funkcjonowanie genów tożsamości od współdziałania pozostałych genów. Funkcją genów homeotycznych jest nadanie tożsamości danemu organowi, natomiast zróżnicowanie morfologiczne tegoż organu u różnych grup organizmów może wynikać również z niezależnej ewolucji genów współdziałających w jego obrębie. Prosiłbym zatem o komentarz w tej kwestii.
- Odnoszę wrażenie, że w ostatnich zdaniach Dyskusji doszło do niezbyt precyzyjnego użycia stosowanej terminologii, co zaowocowało dość niefortunną konkluzją. W moim rozumieniu w zdaniach: „...magnolii mogą być uznane za rodzaj często „eksperymentujący” ze swą budową w trakcie ewolucji, co daje

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań
tel. +48 61 829 5972, kom. +48 666 384 066, fax. +48 61 829 5949
przemow@amu.edu.pl

możliwości lepszej adaptacji do środowiska. Obserwowana zmienność, która jest wyrazem możliwości podejmowania wielu różnych dróg w trakcie ewolucji świadczy o dużej plastyczności rodzaju *Magnolia*." dochodzi do swoistego pomieszczenia dwóch różnych procesów. Z jednej strony mamy proces ewolucji polegający na przekazywaniu potomstwu zestawu określonych cech genetycznych, a z drugiej strony mamy do czynienia z plastycznością fenotypową, której przejawem jest dostosowywanie się poszczególnych osobników do środowiska. Nie jestem w pełni przekonany, że można to właśnie w ten sposób połączyć, ale być może się mylę i chętnie usłyszę opinię Doktorantki w trakcie dyskusji nad rozprawą.

OCENA STRONY EDYTORSKIEJ ROZPRAWY

Praca jest w znaczącej części przygotowana bardzo starannie, także pod względem ilustracyjnym. Tak jak w wielu przypadkach, dla recenzenta, niejako zawodowo zajmującego się redakcją tekstów różnego pochodzenia i przygotowanych w różnych językach, najważniejszą jest obserwacja, że rozprawa w zdecydowanej większości jest napisana jasnym i w miarę poprawnie używanym językiem. Zdaję sobie sprawę, że opisanie zagadnień złożonych nigdy nie jest sprawą prostą. Niemniej Autorka nie ustrzegła się pewnych błędów, z których najważniejsze, **ale nie wymagające dyskusji**, pozwalam sobie zawrzeć poniżej.

TERMINOLOGIA

- Nie mogę przejść obojętnie obok słowa „abortowane”, użytego w odniesieniu do zrzuconych pędów generatywnych magnolii. W terminologii biologicznej mamy termin abscysja, który znakomicie do tego procesu pasuje.
- Na str. 70 i kolejnych pojawia się skrót mQH2O. W wykazie skrótów jest on opisany jako „woda o bardzo wysokiej czystości”. Nie można tego traktować inaczej niż zapis żargonowy, wynikający ze stosowania wody oczyszczanej w aparacie Milli-Q firmy Millipore.
- Na szczęście tylko w jednym miejscu w rozprawie pojawia się odstępstwo od przyjętego układu jednostek – na str. 80 stężenie opisano „0,2 N NaOH”.
- W wykazie skrótów pojawia się błąd, o którym sądziłem, że już nie spotkam. Skrót „dNTP” oznacza „trifosforany deoksynukleozydów”, a nie po prostu „deoksynukleotydy”.

JĘZYK POLSKI

- Mimo piękna użytego w rozprawie języka, znalazło się w niej kilka sformułowań, których nieprawidłowe stosowanie często obserwuje się w języku potocznym, a których należy unikać w takich tekstach, jak rozprawa doktorska. Niestety, czuję się już trochę jak błędny rycerz, ale po raz kolejny muszę umieścić w recenzji uwagę o jednym z najczęściej spotykanych błędów, a mianowicie o używaniu czasownika „posiadać” w odniesieniu do makrocząstek, komórek, organów, czy całych organizmów, np. „... heterobotmię, czyli zjawisko posiadania przez jeden organizm...” (str. 17), „... nie posiadają członów naczyń w ogóle.” (o gatunkach; str. 18), „...domena C (...) posiada region aktywacji transkrypcji” (o białku; str. 27), czy też „...posiadające charakterystyczną woń” (o kwiatach; str. 22). Posiadanie odnosi się zwykle do ludzi i ich własności, majątku, oraz do relacji osobowych, a więc np. właściciel posiada posesję czy ziemię.
- Na drugim miejscu umieszczam nieumiejętność rozróżniania i prawidłowego stosowania dwóch znaków pisarskich: myślnika oraz dywizu jako łącznika. Wprowadza to bardzo duże zamieszanie w niektórych partiach tekstu i utrudnia zrozumienie rozprawy.

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań
tel. +48 61 829 5972, kom. +48 666 384 066, fax. +48 61 829 5949
przemow@amu.edu.pl



- Autorka dokonała dużo, by uniknąć kopiowania określeń angielskich. Taka kalka anglo/polskojęzyczna rzuca się w oczy właściwie tylko w jednym miejscu – na str. 41 pojawia się sformułowanie: „...substancji o właściwościach aktywujących oraz inhibitujących dany proces...”. W języku polskim inhibitor raczej „hamuje”, a na pewno nie „inhibituje”.
- W rozprawie, choć niezwykle rzadko, ale jednak pojawiają się wyrażenia, które trudno określić inaczej jak żargonowe. Szczególnie uporczywie stosowanym było: „geny należące do modelu ABC”, co w większej całości dawało czasami kuriozalne sformułowania typu: „...nie tylko geny należące do modelu ABC, lecz w ogóle do całej rodziny MADS.” (str. 25). Do wyrażen żargonowych zaliczam również: „...stworzenie przez roślinę optymalnego dostępu do światła niekoniecznie odbywa się przez wybór wzoru Fibonacciego...” (str. 38); „...gdy płyta składa się z kilku otworów mówimy o perforacji złożonej...” (str. 46)

EDYCJA TEKSTU

- Na str. 19 i 20 autorka odwołuje się w kilku zdaniach do koncepcji kwiatu właściwego. Pierwsze zdanie sugeruje, że to dwie kobiety sformułowały tę teorię. W jednym z kolejnych zdań pojawia się słowo „autorzy”. Szybkie sprawdzenie w zasobach Internetu pokazuje, że autorami byli Edward Alexander Newell Arber oraz John Parkin.
- Mam zastrzeżenia do jakości niektórych ilustracji użytych w rozprawie, zwłaszcza wykresów przygotowanych najprawdopodobniej w Excelu. W zasadzie są one mało czytelne i nieostre.

OPIS MATERIAŁÓW I METOD

- Pewien bałagan opisowy dotyczy barwników stosowanych do analiz morfologiczno-anatomicznych. Na str. 61 wśród stosowanych barwników nie pojawia się nigrozyna, natomiast na kolejnych stronach, przy opisie stosowanych metod, nie zostały podane stężenia procentowe roztworów barwników użytych do wybarwienia elementów kwiatów, liści, czy drewna magnolii (str. 66-68).
- Kłopot sprawia Autorce również określenie użytego mikrotomu, którego typ jest różnie nazywany (suwakowy vs. saneczkowy), a i przypisanie konkretnego modelu też jest niejednoznaczne (por. str. 63 i 66).

WNIOSEK KOŃCOWY

Konkludując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca, mimo drobnych przedstawionych zastrzeżeń, spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim i określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.), tj. stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w określonej dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Wobec powyższego wnoszę do Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pani Magdaleny Wróblewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego prowadzących do nadania stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.

prof. dr hab. Przemysław Wojtaszek
ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań
tel. +48 61 829 5972, kom. +48 666 384 066, fax. +48 61 829 5949
przemow@amu.edu.pl