



dr hab. Andrzej Kornaś, prof. UP
Zakład Biologii Komórki i Genetyki, Instytut Biologii
Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej
ul. Podchorążych 2
30-084 Kraków

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Cencory pt. „Porównanie wybranych cech fizjologicznych *Hieracium aurantiacum* L. rosnących w obrębie zwartego zasięgu i poza lokalną północną granicą zasięgu”

Taksony z rodzaju *Hieracium* L. (jastrzębiec) od dawna wzbudzały ciekawość wśród systematyków, jednym z powodów tego zainteresowania jest możliwość apomiktycznego sposobu rozmnażania niektórych gatunków, do których należy również *H. aurantiacum* L. (jastrzębiec pomarańczowy), stanowiący obiekt badań w niniejszej pracy doktorskiej. W Karpatach Polskich przebiega jego lokalna, północna granica zasięgu i dopiero po dużej dysjunkcji gatunek ten ponownie pojawia się w Skandynawii i krajach bałtyckich. Na północ od Karpat, występują stanowiska oderwane od głównego zasięgu oraz liczne stanowiska antropogeniczne, wykazuje tendencje do powiększania swojego zasięgu, traktowany jest jako roślina inwazyjna.

Zasadniczym celem pracy było porównanie wybranych cech fizjologicznych roślin *H. aurantiacum* rosnących w obrębie dwóch zasadniczych lokalizacji, tj. zasięgu zwartego (na obszarze Bieszczadzkiego Parku Narodowego) oraz stanowisk położonych poza lokalną, północną granicą zasięgu występowania tego gatunku. Zamierzeniem było wykorzystanie przede wszystkim nieinwazyjnych metod badawczych - umożliwiających dokonywanie pomiarów bezpośrednio w terenie - roślin podlegających wpływowi nieustannie zmieniających się czynników środowiskowych. Niedestrukcyjny charakter badań, szybkość wykonywania pomiarów, niski koszt oraz możliwość przeprowadzania badań w różnorodnych warunkach są dodatkowymi zaletami. Ciekawą propozycją było zastosowanie w przeprowadzonych badaniach analizy dyskryminacji ^{13}C oraz metody spektrometrii FT-Ramanowskiej. Stąd podjęcie tematyki i sposób przeprowadzenia zaproponowany przez Doktorantkę jest w pełni uzasadniony.

Szczegółowa ocena pracy doktorskiej

Rozprawa doktorska mgr **Agnieszki Cencory** liczy 116 stron maszynopisu, zawiera 31 rycin i 4 tabele. Obejmuje elementy typowe dla rozpraw doktorskich z dziedziny nauk biologicznych z zachowaniem powszechnie przyjętego układu. Praca zawiera: spis treści,

wykaz stosowanych skrótów, wstęp, cel pracy, charakterystykę materiału badawczego i zastosowanych metod, uzyskane wyniki i ich dyskusję, wnioski, streszczenie (w języku polskim i angielskim) oraz bibliografię.

„Wykaz skrótów” stosowanych w pracy został właściwie zestawiony i wyjaśniony. „Część teoretyczna” będąca wstępem do rozprawy wprowadza w zagadnienia będące przedmiotem szczegółowych badań Doktorantki. Zawiera ogólną charakterystykę taksonu będącego obiektem badań, zawiera m.in. przynależność systematyczną, charakterystykę morfologiczną, sposób rozmnażania, wymagania siedliskowe oraz rozmieszczenie stanowisk jego występowania w Polsce. Zwrócono tu także uwagę na inwazyjny charakter tego taksonu na świecie. W dalszej części wstępu szczegółowo scharakteryzowano nieinwazyjne metody badawcze, wykorzystane do realizacji zaplanowanych badań tj. oceny stanu fizjologicznego roślin na podstawie parametrów kinetyki fluorescencji chlorofilu *a*, dyskryminację izotopu węgla ¹³C, oznaczanie zawartości flawonoidów i chlorofilu oraz indeksu azotowego, refleksję promieniowania świetlnego od liści oraz widma i współczynniki refleksji oraz spektrometrię FT-Ramanowską. Opisano naukowe podstawy każdej z metod oraz ich użyteczność w fizjologii roślin, zwracając uwagę na zalety oraz ograniczenia. W części dotyczącej opisu fluorescencji chlorofilu *a*, można by szerzej opisać to zjawisko, charakteryzując mechanizm fluorescencji. Niejasny jest opis indeksu wydajności „PI”, co oznacza „rodzaj ‘wewnętrznej siły’”? Przy opisie metody dyskryminacji izotopu węgla ¹³C brakuje mi opisu procesu β-karboksylacji i jego interpretacji w kontekście tej metody badawczej. W nawiązaniu do opisu oznaczania zawartości flawonoidów i chlorofilu oraz indeksu azotowego (NBI) ogólnie zdefiniowano i opisano metabolizm wtórny, w tym miejscu warto uzupełnić ten fragment tekstu o informację dotyczącą biologicznej roli metabolitów wtórnych. Nie jasne jest dla mnie zdanie na str. 26 (linia 17-21), wymaga gruntownego przerehabilitowania. Podobnie nie jasno podano informację o miejscu gromadzenia flawonoidów. Nieprecyzyjnie podano informację dotyczącą roli oraz przebiegu cyklu wiolaksantynowego (VAZ). Należy doprecyzować tytuł podrozdziału 3.8. - istnieją trzy naturalnie występujące izotopy węgla, podczas gdy omawiana jest analiza tylko dwóch. Dlaczego rodzaj *Hieracium* sprawiał trudności w pierwszych badaniach genetycznych, na czym one polegały (por. str. 7)? Jak w świetle obecnej wiedzy można je wyjaśnić? W serwisie „EDDMapS” odnotowywane są nowe stanowiska na terenie USA, a nie w Polsce jak błędnie podano. Zamiast określenia „karboksylaza RUBP” i karboksylaza PEP, precyzyjniej będzie zastosować odpowiednio: RubisCO (karboksylaza/oksygenaza rybulozo-1,5-bisfosforanu) i PEPC (karboksylaza fosfoenolopirogronianu), ponadto należy również wyjaśnić skrót „CAM”. W rozdziale 1.4. zamiast kwasu „mawalonowego” i „dihydroflawonole”, powinno odpowiednio być,

„mewalonowego” oraz „dihydroflawonole”. Anglojęzyczne wyjaśnienie wskaźnika „SIP1” z powodzeniem można podać w języku polskim. Dobór treści przedstawionych we wstępie i zasadność ich charakterystyki jest właściwa.

W kolejnej części dysertacji sformułowano cele pracy oraz hipotezę badawczą. W przedstawionej hipotezie badawczej warto by uszczegółowić, o jakie zaburzenia siedliskowe na terenach nieleśnych chodzi. W rozdziale „Materiał i metody”, obejmującym 15 stron znajduje się charakterystyka stanowisk badawczych oraz szczegółowy opis przeprowadzonych pomiarów i analiz. Charakterystyka stanowisk powinna być wzbogacona o opis warunków meteorologicznych. Mam wątpliwości, czy wszystkie ryciny (fotografie) obrazujące oczywiste czynności, powinny być zamieszczone, por. m.in. Ryc. 9, 10, 12. Na str. 45, bez żadnego komentarza i odnośnika zamieszczono tabelę, w której zestawiono przypisanie związków chemicznych do najbardziej charakterystycznych pasm (pików), obserwowanych w widmach Ramana uzyskanych dla badanych obiektów. Stosowny odnośnik do tej tabeli znajdujemy dopiero na str. 57. W opisie pomiarów refleksji i współczynników refleksji (str. 46) napisano, że „Współczynniki refleksji obliczane były automatycznie przez przyrząd na podstawie wzorów opisanych powyżej”, jednakże nie zostały one tam zamieszczone. Reasumując opis materiałów i metod jest przedstawiony w sposób precyzyjny, pozwalający na powtórzenie procedur przez innych badaczy.

W rozdziale „Wyniki” liczącym 22 strony przedstawiono uzyskane rezultaty pomiarów i analiz prowadzonych w latach 2011-2013, za wyjątkiem danych dotyczących widm FT-Ramanowskich (dane uzyskane w latach 2013-2013) oraz pomiarów refleksji liści, pomiarów dyskryminacji ^{13}C , które wykonano w jednym sezonie (2013). Stanowią je: pomiary zawartości chlorofilu w liściach, flawonoidów w epidermie liści, wartość indeksu azotowego w liściach, badania składu chemicznego liści metodą FT-Ramanowską, pomiary refleksji, pomiary sprawności PSII, wartości dyskryminacja węgla ^{13}C oraz analizę chemiczną gleby. Wyniki zostały zaprezentowane w kolejności adekwatnej do zaproponowanych metod opisanych w poprzednim rozdziale. W ostatnim sezonie badawczym z przyczyn niezależnych od Doktorantki nie wykonano pomiarów na liściach z jednego stanowiska. Na Ryc. 18, wyniki wartości NBI przedstawiono w formie wykresu słupkowego, a nie liniowego, nie można ich interpretować jako „przebieg wartości”. W opisie Ryc. 19, powinno być jednoznacznie wskazane, że przedstawione widma FT-Ramanowskie dla liści z poszczególnych stanowisk zostały rozsunięte, celem lepszego zobrazowania pików. W podpisie do rycin, każdorazowo powinna być podana liczba powtórzeń „n”. Korekty wymaga forma zapisu jednostek na wykresach, przedstawiających wartości w jednostkach relatywnych, por. m.in. Ryc. 16, zamiast „[jednostki Dualex]”, powinno być [r.u.]. Na Ryc. 23A przedstawiono wartości

współczynnika ARI1, można mieć wątpliwości, co do braku statystycznie istotnych różnic między stanowiskiem w Połoninie Wetlińskiej i Biskupim Łanie. Sugeruję powiększyć rozmiar czcionki zastosowanych do opisu osi na wykresach (Ryc. 23). Na Ryc. 24, przedstawiono krzywe indukcji fluorescencji chlorofilu *a*. Jednakże zbyt duży rozmiar znaczników utrudnia analizę, ponadto należałoby opisać użyte oznaczenia (O, J, I i P). Opis wyników nie powinien być rozpoczynany od zamieszczenia ryciny, por. str. 69, 70. Zaprezentowanie części wyników w formie wykresów pajęczynowych jest graficznie atrakcyjne, jednakże do ewentualnej publikacji sugeruję przedstawienie wyników w formie tabelarycznej, ułatwia to ich analizę.

W „Dyskusji” liczącej 12 stron Autorka przeanalizowała uzyskane wyniki na tle literatury naukowej. Również układ treści w dyskusji jest adekwatny do kolejności opisu do uzyskanych wyników, co niewątpliwie ułatwia analizę treści. W części dyskusji dotyczącej określenia zawartości chlorofilu w liściach na podstawie pomiarów przyrządem Dualex i metodą biochemiczną, podkreślono brak korelacji uzyskanych wyników. Jakie działania Doktorantka mogłaby zaproponować, aby spróbować rozwiązać ten problem? Dobrym uzupełnieniem przeprowadzonych badań, również w kontekście dyskusji byłoby dokonanie charakterystyki morfologicznej i przeprowadzenie analizy budowy anatomicznej roślin z poszczególnych stanowisk. Uzyskane wyniki dotyczące dyskryminacji ^{13}C są interesujące, wymagają szerszego przedyskutowania w kontekście możliwości przebiegu procesu β -karboksylacji. Co Autorka miała na myśli pisząc, że „... w niekorzystnych warunkach wzrostu tych roślin fotosynteza mezofilu liści traci swoje „przodujące” znaczenie...”? Z przeprowadzonych badań wynika, że *H. aurantiacum* jest gatunkiem o stosunkowo małych wymaganiach siedliskowych. Reasumując przedstawioną dyskusję, uzyskane wyniki zostały właściwie skomentowane, aczkolwiek niektóre z nich można było szerzej zinterpretować.

W rozdziale stanowiącym podsumowanie przeprowadzonych badań wyszczególniono 4 zasadnicze wnioski. Moim zdaniem warto wzbogacić zaprezentowane podsumowanie o dodatkowe.

Spis cytowanej bibliografii wg. wykazu obejmuje 188 pozycji oraz 15 pozycji netograficznych. Należy starannie uporządkować bibliograficzny wykaz publikacji - brakuje kilku cytowanych w tekście prac (m.in. Fillela i Penuelas, 1999, s. 78; Gamon i Surfus, 1999, s. 78, Gitleson i Merzylak 1998, s. 78; ...) i odwrotnie są na wykazie, natomiast nie znajduję ich w tekście (m.in. poz. poz 27, 44, 160, ...) oraz ujednotwić zapis redakcyjny cytowanych pozycji, m.in. konsekwentnie stosować skróty lub pełne nazwy czasopism. Wprowadzić zapis odnośników do źródeł netograficznych jest dość umowny, niemniej sugerowałbym, użycie bardziej skondensowanej formy. Dysertacja kończy się streszczeniem w języku polskim i

angielskim, moim zdaniem powinno ono być przygotowane w bardziej skondensowanej formie.

Uwagi redakcyjne i inne

Praca napisana jest poprawnym językiem naukowym. W tekście występują nieliczne błędy stylistyczne, interpunkcyjne, literowe oraz zapożyczenia z języka potocznego - zaznaczyłem je w recenzowanym egzemplarzu - nie utrudniają odbioru treści, są łatwe do usunięcia. W podpisie rycin konsekwentnie powinny być stosowane łacińskie nazwy gatunku (por. Ryc. 2, 3). W rozdziale stanowiącym „Wstęp” brak jest odnośników do zamieszczonych rycin. Należy podawać chemiczną nazwę związków, a nie handlowe, por. str. 20 (Diuron (DCMU)). Opis budowy chemicznej barwników karotenoidowych wyczerpująco podano w języku polskim, nie ma potrzeby podawania równoległego zapisu w języku angielskim (str. 57). Bibliografia jest bogata, aczkolwiek można by ją nieco zredukować, szczególnie w części metodycznej, oczywiście przy zachowaniu właściwych zasad. Ponadto muszę zaznaczyć, że zgodnie z obowiązującymi zasadami, nazwę łacińską podajemy tylko za pierwszym razem w pełnej wersji, po wprowadzeniu skrótów na ogół nie stosujemy już pełnych nazw w tekście (por. str. 36).

Zamierzony cel pracy doktorskiej został osiągnięty. Ciekawe rezultaty dotyczą wartości współczynnika dyskryminacji ^{13}C , warto w przyszłości rozszerzyć analizę o inne organy badanej rośliny. Autorka nie ustrzegła się błędów, jednakże moje uwagi dotyczą bardziej formy niż treści zaprezentowanych w pracy. Powyższe uwagi w małym stopniu dotyczą wartości merytorycznej pracy i są z mojej strony próbą podpowiedzi, jak uniknąć zarzutów ze strony recenzentów w procedurze publikowania wyników w czasopiśmie naukowych. Oceniana praca zawiera wszystkie elementy typowe dla rozpraw doktorskich i spełnia wszelkie wymagania formalne i merytoryczne stawiane tego typu opracowaniom. Autorka wykazała się dużą wiedzą, umiejętnościami stosowania szeregu metod pomiarowych i przygotowaniem do wykonywania prac badawczych.

Reasumując stwierdzam, że praca doktorska mgr Agnieszki Cencory została przygotowana na podstawie właściwie przeprowadzonych badań, wykonanych z użyciem nowoczesnych technik. Spełnia kryteria stawiane przed dysertacjami doktorskimi.

Wobec pozytywnej oceny przedstawionej pracy doktorskiej, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Cencory do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 29 luty 2016 r.



dr hab. Andrzej Kornaś prof. UP