

dr hab. Katarzyna Marcysiak, prof. uczelni
Wydział Nauk Biologicznych
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego
Al. Ossolińskich 12
85-093 Bydgoszcz

Bydgoszcz 22.02.2021 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr Marioli Rabskiej pt. „Wpływ warunków środowiskowych na morfologiczne i fizjologiczne zróżnicowanie międzypłciowe *Juniperus communis* L. oraz *Adriana tomentosa* Gaudich.”

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Marioli Rabskiej: „Wpływ warunków środowiskowych na morfologiczne i fizjologiczne zróżnicowanie międzypłciowe *Juniperus communis* L. oraz *Adriana tomentosa* Gaudich.” została wykonana w Zakładzie Biogeografii i Systematyki Instytutu Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku. Promotorem pracy jest dr hab. Grzegorz Iszkulo, rolę promotora pomocniczego przyjęła dr inż. Emilia Pers-Kamczyc.

Doktorantka w swojej rozprawie zajęła się istotnym i dotąd niedostatecznie zbadanym zagadnieniem dymorfizmu płciowego u roślin dwupiennych. Dwupienność jest częstym zjawiskiem u roślin nagozalążkowych, natomiast u okrytozalążkowych występuje rzadko, mimo to więcej prac poświęcono zbadaniu tego zjawiska właśnie u okrytozalążkowych. Poznanie właściwości gatunków dwupiennych związanych ze strategiami przeżycia obu płci i sukcesu reprodukcyjnego staje się istotnym zadaniem, szczególnie w dobie globalnego ocieplenia, które może stanowić zagrożenie dla niektórych z tych roślin. Takim gatunkiem jest wybrany przez Doktorantkę do badań jałowiec pospolity *Juniperus communis*, o zagrożeniu którego pojawiają się doniesienia. Wcześniejsze publikacje informujące o istnieniu różnic między osobnikami obu płci tego gatunku potwierdzają jego przydatność do badań dymorfizmu płciowego, a zatem także słuszność jego wyboru przez Doktorantkę. Wnioski będące rezultatem przeprowadzonych badań stają się szczególnie uzasadnione, jeśli możemy wykazać ich słuszność dla różnych obiektów badawczych, np. gatunków. Toteż dobór drugiego gatunku, odległego taksonomicznie *Adriana tomentosa* z rodziny wilczomleczoowatych, należy uznać za uzasadniony. Może co prawda dziwić skierowanie zainteresowań badawczych w stronę taksonu tak odległego również geograficznie, ale zrozumiała jest chęć wykorzystania okazji do przeanalizowania egzotycznej rośliny, bowiem uzyskane wyniki mogą okazać się unikatowe.

Zgodnie ze spisem treści, dysertacja liczy 126 stron, po czym następują oświadczenia współautorów publikacji naukowych. Rozprawa została oparta o dorobek Autorki, na który składają się trzy artykuły naukowe opublikowane w języku angielskim:

1 - Rabska M., Pers-Kameczyc E., Żytkowiak R., Adamczyk D., Iszkuło G. 2020a. Sexual dimorphism in the chemical composition of male and female in the dioecious tree, *Juniperus communis* L., growing under different nutritional conditions.– opublikowana w International Journal of Molecular Sciences, 21 (21), czasopiśmie publikowanym on-line przez MDPI; o IF z 2019 równym 4,556 (5-letni IF 4,653) i liczbie punktów za publikację zgodnie z Załącznikiem do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 9 lutego 2021 r. wynoszącej 140;

2 – Rabska M., Robakowski P., Ratajczak E., Żytkowiak R., Iszkuło G., Pers-Kameczyc E. 2020 b. Phytochemistry differs between male and female *Juniperus communis* L. independently of nutritional availability. – opublikowana w czasopiśmie Trees, Structure and Function, 35: 27–42, wydawanym przez Springer Link, o IF z 2019 równym 2,125 i liczbie punktów zgodnie z wykazem ministerialnym wynoszącej 100;

3 – Rabska M., Warwick N.W.M., Iszkuło G., Gross C.L. 2020 c. Intersexual differences in leaf size and shape in dioecious *Adriana tomentosa* [Euphorbiaceae]. – opublikowana w czasopiśmie Journal of Plant Ecology, 14 (1): 67–83, wydawanego przez Oxford University Press, o IF z 2019 równym 1,833 (5-letni IF 2,299) i liczbie punktów za publikację zgodnie z wykazem ministerialnym wynoszącej 100.

Łącznie Doktorantka za trzy opublikowane artykuły zgromadziła 340 punktów oraz IF wynoszący 8,514, co należy uznać za znaczący dorobek na tym etapie rozwoju naukowego.

Autorka wykorzystwała dwa granty na sfinansowanie swoich badań: z Narodowego Centrum Nauki (2015/19/N/NZ8/03850) oraz ze środków Rządu Australijskiego w ramach programu stypendialnego „Endeavour Scholarships and Fellowships, 2017”.

Dysertację rozpoczyna krótka przedmowa, w której Autorka nawiązuje do tematu badań i wymienia artykuły składające się na rozprawę. W następującym po przedmowie Spisie treści pomyłono kolejność dwóch pierwszych prac. Następnie umieszczono Streszczenia w języku polskim i angielskim (Abstract). Na kolejnych 16 stronach znajdziemy omówienie koncepcji pracy, syntezę wyników oraz podsumowanie i wnioski z badań, których szersze omówienie znajduje się w publikacjach, oraz bibliografię. Następne części rozprawy to artykuły naukowe,

wraz z suplementami. Z umieszczonych na końcu pracy oświadczeń wynika, że mgr Rabska wniosła istotny wkład w opracowanie artykułów, który w przypadku artykułu pierwszego (Rabska et al., 2020a. Int J Mol Sci 21(21), 8094) obejmował: udział w opracowaniu koncepcji badań i modelu statystycznego, analizie statystycznej, pozyskaniu części danych, napisaniu pierwotnej wersji manuskryptu i przygotowaniu jego wersji ostatecznej oraz pozyskaniu finansowania. W przypadku artykułów drugiego (Rabska et al. 2020b. Trees 35: 27–42) i trzeciego (Rabska et al. 2020c. J Plant Ecol 14 (1): 67–83), Autorka stwierdza, że brała udział w opracowaniu koncepcji i zaprojektowaniu badań, pozyskaniu wyników lub ich części, analizie i interpretacji danych, napisaniu pierwotnej wersji manuskryptu i opracowaniu wersji ostatecznej. Do badań w ramach artykułu drugiego pozyskała także finansowanie.

Cała wstępna część pracy jest poprawna językowo i dobrze napisana, Autorka potrafi formułować myśli, interpretować wyniki i formułować wnioski, poprawnie korzysta ze źródeł, które odpowiednio cytuje. W Koncepcji badań Doktorantka udowadnia dobre rozeznanie w temacie, właściwie uzasadnia sens podjętych badań i stawia poprawne hipotezy badawcze. Jasno określa główny cel, jakim było określenie stopnia nasilenia drugorzędowego dymorfizmu płciowego dotyczącego cech fizjologicznych i morfologicznych u dwóch gatunków dwupiennych roślin drzewiastych, a także formułuje trzy hipotezy badawcze. Zakłada w nich, że: 1 – różnice między płciami związane są z obecnością u osobników żeńskich mechanizmów umożliwiających im kompensację większego wysiłku reprodukcyjnego, 2 – różnice między płciami dotyczą reakcji na czynniki stresowe oraz, że 3 – różnice dotyczą strategii alokacji zasobów i gromadzenia substancji w liściach.

Badania przeprowadzono w oparciu o materiał *Juniperus communis* pozyskany z dobrze zaplanowanego i zrealizowanego doświadczenia doniczkowego oraz liście *Adriana tomentosa* zebrane w terenie z dwóch populacji różniących się warunkami siedliskowymi. Doświadczenie doniczkowe umożliwiało porównania między osobnikami męskimi i żeńskimi oraz między roślinami nawożonymi i nienawożonymi, a łączna liczba 1000 doniczek pozwalała na pobieranie prób o odpowiedniej liczebności. W syntetycznej metodyce (w jęz. polskim) nie podano liczby osobników zbieranych do analiz przeprowadzanych cztery razy do roku, w dwóch kolejnych latach, a zamieszczone tam stwierdzenie: „Pozyskiwane były wszystkie igły osobników” może budzić zdziwienie. Dokładną metodę próbkowania znajdujemy dopiero w artykule pierwszym 1 (Rabska et al., 2020a. J Mol Sci 21(21), 8094), z którego wynika, że jednorazowo badano 24 osobniki. Materiał *Adriana tomentosa* pozyskano z dwóch populacji – liczniejszej, którą w badaniach reprezentowało łącznie 30 osobników, i bardzo nielicznej,

gdzie próbkowano łącznie 12 roślin. Liczba ta jest niewystarczająca do porównań i wyciągnięcia ogólnych wniosków, co zresztą Autorka zastrzega w swojej pracy, niemniej przeanalizowanie jej stanowi istotny wkład w poznanie tego słabo zbadanego gatunku. Doktorantka zbadała dymorfizm płciowy oraz reakcje roślin na dwa sposoby zasilania krzewów jałowca pospolitego, głównie na podstawie cech chemicznych oraz fizjologicznych, określając zawartość różnych węglowodanów, węgla, azotu oraz kilku innych makroelementów, związków fenolowych, a także barwników fotosyntetycznych, wolnych rodników oraz badając fluorescencję chlorofilu *a* i aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Badaną cechą morfologiczną był stosunek masy do powierzchni liści. W przypadku *Adriana tomentosa* przeanalizowano kilka cech morfologicznych, głównie określających powierzchnię, kształt i wcinanie liści, specyficzną powierzchnię liści, a także uszkodzenia blaszki liściowej. Podobnie jak w przypadku jałowca, określono zawartość węgla i azotu, nowością było zbadanie zawartości izotopów stabilnych tych pierwiastków oraz zawartości wody.

W rozdziale: Synteza wyników, mgr Rabska przedstawia kolejno najważniejsze wyniki, opublikowane w kolejnych artykułach, składających się na rozprawę. Omówienie to jest ilustrowane dobrze opracowanymi syntetycznymi tabelami, z których w łatwy sposób można odczytać wyniki badań. Umiejętność syntezy jest jedną z ważniejszych cech naukowca, który zmagają się z wieloma zgromadzonymi danymi. W takiej sytuacji była też Doktorantka, która w ciągu swoich badań osiem razy dokonywała pomiarów kilkunastu czynników, analizowanych w różnych układach. Natłok uzyskanych wyników dla początkującego badacza może okazać się trudny do przeanalizowania. Mgr Rabska doskonale poradziła sobie z tym zadaniem, wyciągając wnioski tam, gdzie było to możliwe, wychwytyując niuanse związane np. z różnymi wynikami uzyskanymi w kolejnych latach, oraz pamiętając, że prowadzi swoje badania w ograniczonym czasie i na specjalnie przygotowanym materiale. Umiejętność krytycznego podejścia do własnych wyników, które może być niełatwa, szczególnie na początku drogi naukowej, po raz kolejny dowodzi dojrzałości Autorki.

W ostatnim rozdziale, zawierającym podsumowanie i wnioski, Doktorantka przeprowadza krótką dyskusję wyników i odnosi się do postawionych na początku pracy hipotez. Stwierdza, że hipoteza pierwsza, zakładająca związek różnicy między płciami z większym wysiłkiem reprodukcyjnym osobników żeńskich, nie została potwierdzona, na co wskazują wyniki opublikowane w artykule drugim (Rabska et al. 2020b. *Trees* 35: 27–42) i trzecim (Rabska et al. 2020c. *J Plant Ecol* 14 (1): 67–83). Hipotezy postawione w tych publikacjach nie odnoszą się wprost do hipotezy, jaką znajdujemy w koncepcji pracy, niemniej wyraźnie do niej

nawiązują. Wyciągnięte wnioski należy uznać za słuszne, a brak potwierdzenia głównej hipotezy stanowi interesujący i cenny wkład w poznanie gatunków dwupiennych. Badania zmierzające do zweryfikowania hipotezy drugiej, zakładającej, że u gatunków dwupiennych występują różnice między płciami w strategiach i nasileniu odpowiedzi na czynniki stresowe, zawarto głównie w artykułach: pierwszym (Rabska et al., 2020a. *J Mol Sci* 21(21)) i drugim (Rabska et al. 2020b. *Trees* 35: 27–42). W hipotezach zamieszczonych w tych dwóch publikacjach owe czynniki zostały uściślone jako ograniczenie składników odżywczych oraz niska temperatura. Uzyskano istotny związek płci z zawartością związków fenolowych i karotenoidów jako odpowiedzi na niską temperaturę, co pozwoliło na potwierdzenie hipotezy. Istotnym wnioskiem jest także stwierdzenie, że odnotowane reakcje nie miały związku z zasobnością podłoża. Trzecia hipoteza, zakładająca, że osobniki męskie i żeńskie gatunków dwupiennych różnią się pod względem strategii alokacji zasobów i gromadzenia substancji w liściach została także potwierdzona, szczególnie dzięki wynikom opublikowanym w artykule pierwszym (Rabska et al., 2020a. *J Mol Sci* 21(21)). Wykazano, że osobniki żeńskie gromadzą w liściach więcej zasobów pokarmowych w porównaniu z męskimi, u których z kolei stwierdzono większą zawartość makroelementów, a oba wyniki po raz kolejny były niezależne od żyzności podłoża.

Bibliografia umieszczona na zakończenie rozdziałów w języku polskim liczy 82 pozycje i obejmuje wszystkie istotne dla badanych zagadnień publikacje, świadcząc o dobrej orientacji Autorki w podjętym temacie badań.

Podsumowując należy stwierdzić, że badania Doktorantki stanowią istotny wkład w poznanie roślin dwupiennych, przecierając szlaki dla dalszych badań. Opublikowane przez Nią wyniki z pewnością wzbudzą zainteresowanie w świecie naukowym, co przełoży się na ich wysokie wskaźniki cytowań. Przy całym uznaniu dla dokonań Autorki, podczas lektury jej rozprawy doktorskiej kilka kwestii wzbudziło moje wątpliwości i pytania, i bardzo proszę o ich wyjaśnienie:

1 – Tytuł rozprawy: „Wpływ warunków środowiskowych na morfologiczne i fizjologiczne zróżnicowanie międzypłciowe *Juniperus communis* L. oraz *Adriana tomentosa* Gaudich.” wydaje się nie do końca zbieżny z przeprowadzonymi badaniami. W postawionych hipotezach nie ma odniesienia do warunków środowiskowych, mowa jedynie o warunkach stresowych, podobnie w tytułach i hipotezach w poszczególnych publikacji nie ma nawiązania do warunków środowiskowych. Wpływ tych warunków był badany tylko w artykule trzecim dotyczącym *Adriana tomentosa*.

2 – Wyniki osiągnięte w pracy wskazują na brak zależności odpowiedzi obu płci na testowane warunki od żyzności podłoża (nawożenia), niemniej z lektury artykułów wynika, że Autorka traktowała brak nawożenia jałowców jako czynnik stresujący – ograniczenie warunków odżywczych (nutrient limited conditions). Nie zgadzam się, że brak nawożenia jałowców mógł stanowić dla nich warunki stresujące, bowiem krzewy posadzono w ziemi pochodzącej z mieszanego lasu liściastego (mixed broadleaved forest), czyli żyzniejszej niż podłoże w optymalnym dla tego gatunku siedlisku boru mieszanego i boru świeżego.

3 – Badanie morfologicznego zróżnicowania (patrz tytuł) w przypadku jałowca ograniczyło się do oceny stosunku masy do powierzchni liścia (LMA); proszę o wyjaśnienie metodyki obliczania tego wskaźnika, której nie znalazłam w pracy.

4 – Proszę o wyjaśnienie, dlaczego w przypadku jałowca posłużono się LMA, a dla *Adriana tomentosa* obliczano wskaźnik będący odwrotnością poprzedniego, czyli SLA (specyficzna powierzchnia liścia).

5 – Artykuł omawiający *Adriana tomentosa* został opublikowany, a zatem uzyskał już pozytywne recenzje, niemniej mam parę uwag dotyczących zastosowanych w nim cech morfologicznych. Pierwsze pytanie – czy zbadano korelacje cech – bowiem podawanie różnic dotyczących kilku silnie skorelowanych wskaźników jest sztucznym „pomnażaniem” wyników. Pozycja bibliografii cytowana przy omawianiu wskaźników morfologicznych sugeruje, że wykorzystano cechy obliczane automatycznie przez program mierzący. To tłumaczy dziwne nazwy cech, raczej nie stosowane w opracowaniach morfologicznych. I tak stosunek powierzchni liścia do jego obwodu (A/P) nazwano ząbkowaniem liścia – cecha ta pokazuje ogólnie głębokość wcięcia liścia (np. klapowanie), nie tylko ząbkowanie. Rażą dwie cechy nazwane kolistość (circularity) i okrągłość (roundness). Zastosowana cecha nazwana kolistością rzeczywiście wskazuje na zbliżenie analizowanego kształtu do koła, ale bazuje na przeliczeniach dwóch cech otrzymanych w wyniku pomiaru: powierzchni liścia i jego obwodu, podobnie jak w przypadku wymienionego wyżej ząbkowania. Taki dobór cech jest niewłaściwy. Z kolei okrągłość to cecha przeliczana, która po raz kolejny bazuje na powierzchni liścia oraz pomiarze nazywanym w pracy maksymalną średnicą liścia, co jest dla mnie niezrozumiałe. Czy chodzi o długość liścia? Podobnie AR – stosunek największej do najmniejszej średnicy – tu proszę o wyjaśnienie, o co chodzi, bo chyba nie o stosunek długości do szerokości liścia?

6 – Kolejna wątpliwość w przypadku *Adriana tomentosa* dotyczy większego udziału liści klapowanych w grupie młodych liści, w porównaniu do starych. Ponieważ kształt liścia, w tym jego wcinanie, nie zmienia się z wiekiem, proszę o próbę wyjaśnienia tego wyniku.

7 – Drobną uwagę dotyczy określenia jałowca pospolitego jako drzewo w publikacji pierwszej (Rabska et al., 2020a. J Mol Sci 21(21)), jako że gatunek ten zwykle określamy jako krzew.

Powyższe uwagi w niczym nie umniejszają dokonań Doktorantki. Mgr Rabska wykonała zróżnicowane badania, prawidłowo je przeanalizowała i zinterpretowała, a wyniki opublikowała, co przyczyni się do ich upowszechnienia. Przedstawiła spójny tematycznie zbiór opublikowanych artykułów, który stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Rozprawę przygotowała pod opieką promotora i promotora pomocniczego, co jest zgodne z wymogami zawartymi w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Wnioskuje o przyjęcie przedstawionej rozprawy i przystąpienie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Rabskiej, ze względu na istotność podjętego przez Doktorantkę tematu badań, dojrzałe i rzetelne podejście do uzyskanych wyników oraz skuteczne ich opublikowanie w wysoko punktowanych czasopismach.

Włodzisław Maciejewski