

Gdańsk, 21.04.2023

Dr hab. Wojciech Pokora, Prof. UG

Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin

Wydział Biologii, ul Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

Uniwersytet Gdański

**Wpłynęło dnia:**

**04. 05. 2023**

**Dziekanat Wydziału  
Biotechnologii i Ogrodnictwa URK**

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr **Aleksandry Bogumiły Florkiewicz**

pt. „**Przemiany hormonalne oraz modyfikacje struktury ściany komórkowej strefy odcinania kwiatów jako element odpowiedzi łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) na suszę glebową**”

Praca wykonana pod kierunkiem dr hab. Emilii Wilmowicz, Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

We współpracy z promotorem pomocniczym dr Agatą Kućko, Katedra Fizjologii Roślin, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Podstawą wykonania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Naukowej Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, RD-9/2023, podjęta dnia 22.02.2023, przesłana w piśmie prof. dr hab., inż. Marcina Rapacza, Przewodniczącego Rady /WBO-D 5100-3.19/2023.

#### Aspekty formalne

Przedłożona Rozprawa doktorska ma formę pracy pisemnej o charakterze monograficznym, przy czym część przedstawionych w pracy wyników została opublikowana w czasopiśmie międzynarodowym. Forma jest w pełni zgodna z wykładnią Rady Doskonałości Naukowej 19/2020, w sprawie składania rozpraw doktorskich (art. 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.)

Na 140 stronach maszynopisu Autorka przedstawia wyniki badań dotyczące hormonalnych przemian oraz modyfikacji związanych ze strukturą ściany komórkowej strefy odcinania (AZ) kwiatów łubinu żółtego w odpowiedzi na deficyt wody w glebie. Wyniki te zostały uzupełnione o analizy transkryptomyczne, które pozwoliły na identyfikację genów zaangażowanych m.in. w reorganizację ściany komórkowej. Z kolei analizy proteomiczne umożliwiły identyfikację białek pojawiających się w AZ kwiatów w odpowiedzi na suszę. Są wśród nich te zaangażowane w regulację transkrypcji i translacji, biorące udział w szlakach biosyntezy i transdukcji sygnału fitohormonów, regulujące metabolizm i sygnalizację komórkową, związane z odpowiedzią rośliny na stres, uczestniczące w degradacji innych białek oraz te, które są zaangażowane w regulację odcinania organów.

Doktorantka jest wiodącym autorem w jednej i współautorem w dwóch publikacjach o zasięgu międzynarodowym, w których opublikowała część uzyskanych w trakcie realizacji rozprawy doktorskiej wyników. Jest także współautorem trzech innych prac nie związanych tematycznie bezpośrednio z doktoratem oraz autorem wiodącym lub współautorem w 8 doniesieniach konferencyjnych.

Układ pracy jest typowy i właściwy dla dysertacji doktorskiej: Autorka zawarła w niej wstęp, opisujący podjęty problem badawczy oraz aktualny stan wiedzy w zakresie poruszanego przez nią problemu naukowego. W sposób szczegółowy opisała zastosowane metody wraz z wykorzystywanymi materiałami. Na niemal trzydziestu stronach doktorantka przedstawia uzyskane wyniki, w tym zestawienia tabelaryczne (7 tabel) oraz ryciny (19, z czego 10 stanowią wysokiej jakości obrazy mikroskopowe). Kolejnych niemal 20 stron zajmuje dyskusja oraz wnioski wyciągnięte na podstawie uzyskanych wyników. Dodatkowo praca zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim, obszerny spis stosowanych skrótów oraz liczący 460 pozycji spis cytowanych prac naukowych. Należy podkreślić, że manuskrypt rozprawy doktorskiej został bardzo starannie przygotowany pod względem edytorskim, a Autorka biegle wykorzystwała dostępne programy komputerowe. Praca została napisana poprawną polszczyzną, na podkreślenie zasługuje fakt, że Autorka ustrzegła się stosowania neologizmów i określeń anglojęzycznych. Stwierdzam, iż przedłożona praca spełnia wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

#### Ocena merytoryczna

Celem dysertacji doktorskiej Pani mgr Florkiewicz było zbadanie hormonalnych przemian oraz modyfikacji związanych ze strukturą ściany komórkowej AZ kwiatów łubinu żółtego w odpowiedzi na deficyt wody w glebie. Doktorantka podjęła badania nad łubinem żółtym, u którego zachodzi duża korelacja między stresem suszy a wielkością plonu. Gatunek ten jest istotny dla sektora rolniczego ze względu na dużą zawartość cennych białek w nasionach. Deficyt wody w glebie prowadzi do przedwczesnego i nadmiernego odcinania kwiatów, co uniemożliwia zawiązanie strąków zawierających nasiona. Podjęty problem badawczy jest kontynuacją/rozwinięciem prowadzonych od szeregu lat przez zespół Pani dr hab. Wilmowicz badań, nad procesami warunkującymi powstawanie oraz zmiany zachodzące w strefie odcinania kwiatów. Analizy te dobrze wpisują się w aktualne światowe trendy problemów badawczych związanych m.in. z zachodzącymi zmianami klimatycznymi, w tym projekcją coraz częstszych i dłuższych okresów suszy występujących w klimacie Polski, Europy Środkowej i świata.

Ciekawi mnie czy Autorka pracy przewiduje w przyszłości praktyczne zastosowanie swoich badań dla ulepszenia plonowania łubinu żółtego. Czy niezbędne są, a jeśli tak, to jakiego typu analizy, które pozwolą wykorzystać zdobytą wiedzę w poprawie upraw tego gatunku?

Wstęp pracy dobrze wprowadza czytelnika w problematykę podjętych badań. Doktorantka szczegółowo opisuje zarówno biologiczne, jak i fizjologiczne odpowiedzi roślin na stres suszy, uwzględniając przy tym aspekty regulacji hormonalnej oraz odpowiedzi związanej za obecnością/aktywnością specyficznych białek, w tym zaangażowanych we wtórną odpowiedź stresową związaną m.in., ze stresem oksydacyjnym. Rozdział poświęcony charakterystyce strefy odcinania przedstawia w zrozumiały sposób przyczyny jej powstawania, przebieg aktywacji oraz udział hormonów roślinnych w tych procesach. W kolejnym rozdziale Doktorantka opisuje skład, budowę oraz udokumentowane dotychczas przez innych



badaczy zmiany w obrębie ściany komórkowej w strefie odcinania. Rozdział został uzupełniony o dopracowane graficznie i czytelne schematy. W moim odczuciu Wstęp rozprawy doktorskiej jest dobrym materiałem do przygotowanie pracy o charakterze przeglądowym, która uzupełniłaby dotychczasowy dorobek Doktorantki, obejmujący publikacje o charakterze typowo eksperymentalnym.

Rozdział poświęcony stosowanym materiałom i metodom badawczym nie budzi zastrzeżeń i w mojej ocenie spełnia wymogi stawiane dysertacji doktorskiej.

Z przyjemnością przeczytałem napisany przez Doktorantkę rozdział poświęcony uzyskanym wynikiom. W zdecydowanej większości prac dyplomowych i/lub doktorskich, ta część rozprawy stanowi dość „suchy” i stosunkowo nużący w czytaniu fragment. Tekst napisany przez Panią mgr Florkiewicz prowadzi czytelnika przez kolejne etapy pracy, w logiczny sposób uzasadniając podjęcie kolejnych etapów pracy, które są rozwijane w kierunkach wskazanych na podstawie uprzednio uzyskanych w trakcie pracy wyników. W mojej opinii taki sposób formułowania opisu uzyskanych przez Doktorantkę wyników jest trafny. W tekście opisu wyników znajdują się także odwołania do wcześniejszych wyników zespołu badawczego, w którym Doktorantka realizowała projekt. Czasami przybierają one formę typową dla dyskusji wyników, jednak uzasadnioną. Na szczególną uwagę zasługuje strona graficzna prezentowania wyników. Połączenia na jednej rycinie wyników analiz białek - barwienie żelu, analiza Western Blot oraz wyniki analizy ilościowej znacząco ułatwiają odbiór treści. Uważam także, iż Doktorantka zaprezentowała bardzo dobrej jakości fotografie mikroskopowe, w tym barwienia histochemiczne i analizy immunocytochemiczne.

Dyskusja uzyskanych wyników jest obszerna i w sposób systematyczny stanowi komentarz do kolejnych partii wyników uzyskiwanych przez Doktorantkę. Podział na wiele akapitów, których tytuły nawiązują do najważniejszych osiągnięć w prezentowanym zakresie, są nawiązaniem do sposobu prezentowania problemów naukowych, typowego dla współczesnych, anglojęzycznych podręczników akademickich. Uważam to za cenną umiejętność korzystania Pani mgr Florkiewicz ze sprawdzonych i dobrych wzorców prezentowania treści naukowych. Z drugiej strony, Dyskusja wydaje się stanowić kilka odrębnych elementów, które łączy wspólny obiekt badawczy i zastosowany stresor.

Doktorantka, w pięciu punktach, w zwięzły sposób podsumowuje uzyskane wyniki, a wniosek końcowy jest w mojej ocenie poprawny i uzasadniony.

#### Uwagi krytyczne

Pewne wątpliwości budzi u mnie sformułowanie przez Doktorantkę celowości podjętych badań. Doktorantka pisze „praca jest kontynuacją badań nad poznaniem wpływu suszy glebowej na zdarzenia zachodzące w komórkach AZ kwiatów *L. luteus*, ze szczególnym uwzględnieniem tych, związanych z auksynami, jasmonianami, a także ścianami komórkowym”. W mojej ocenie kontynuowanie badań prowadzonych w zespole badawczym nie powinno być określone jako cel sam w sobie. W akapicie poświęconym celowości podjętych badań znajduje się opis analiz prowadzonych przez zespół naukowy pod przewodnictwem Pani dr hab. Emilii Wilmowicz, jasno przedstawiony jest też sposób osiągnięcia założonego „celu”, jednak cel jako taki – hipoteza badawcza nie została sprecyzowana (w przeciwieństwie do streszczenia, gdzie jasno ów cel został przedstawiony). Utrudnia to ocenę, czy Doktorantka osiągnęła zamierzony w pracy cel. Uważam jednak, iż jest to uchybienie formalne i nie

wpływa na merytoryczną jakość przedstawionych wyników i dorobku Doktorantki, które oceniam bardzo wysoko.

We *Wstępie*, a także w *Dyskusji* uzyskanych wyników Doktorantka wielokrotnie podkreśla rolę stresu suszy we wtórnej indukcji stresu oksydacyjnego. Rozumiem, iż Doktorantka w swojej pracy skupiła się przemianach hormonalnych oraz zmianach zachodzących w obrębie ściany komórkowej, jednak przy tak rozbudowanej ilości wyników uzupełnienie ich o aktywność/zawartość białka kilku podstawowych enzymów związanych ze stresem oksydacyjnym (SOD, CAT, APX) byłoby cennym uzupełnieniem, zwłaszcza w kontekście przeprowadzonych analiz poziomu MDA.

Za bardzo cenne uważam kompleksowe podejście Doktorantki do badanych problemów – prowadzone zarówno na poziomie analiz histochemicznych, oznaczeń biochemicznych a także analiz o charakterze molekularnym – proteomicznych i transkryptomycznych. Pani mgr Florkiewicz zaprezentowała szeroki wachlarz stosowanych metod badawczych oraz umiejętną interpretację uzyskanych wyników, co zwłaszcza w przypadku analiz proteomicznych i transkryptomycznych nie jest rzeczą prostą, podobnie jak uzyskanie dobrej jakości preparatów mikroskopowych i dokumentacji obrazów analiz histochemicznych. Biorąc pod uwagę fakt, iż część uzyskanych przez Doktorantkę wyników została opublikowana w wysoko indeksowanych czasopismach oraz jakość i zakres zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej rezultatów badań, uważam, iż Pani mgr Aleksandra Florkiewicz w pełni zasługuje na stopień naukowy doktora i jest młodym badaczem o wysokim potencjale kontynuowania swojego rozwoju naukowego.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Florkiewicz spełnia wszystkie wymagania określone w ustawie z dnia 14 marca 2004 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr. 65 poz. 595) z późniejszymi zmianami. Stawiam wniosek do Rady dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Florkiewicz do następnych etapów publicznej obrony. Równocześnie, uwzględniając kompleksowość i wieloaspektowość podjętych badań, wartość i znaczenie publikacji wchodzących w skład dorobku Doktorantki, zaangażowanie Autorki i Jej dotychczasowe osiągnięcia (laureatka Diamentowego Grantu MNiSW) zgłaszam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Florkiewicz.

21.04.2023  
Profesor Uniwersytetu Gdańskiego  
  
dr hab. Wojciech Pokora