

Wydział Biologii Uniwersytetu
Warszawskiego, Instytut Biologii
Funkcjonalnej i Ekologii,
Zakład Fizjologii Zwierząt

ul. Ilji Miecznikowa 1/p.30A
02-096 Warszawa,
tel.: +48 888 858 570;
+48 793 797 070,
e-mail: piotrbe@uw.edu.pl

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Czerwonki o tytule „Poziom markerów odporności nieswoistej u zarodków wybranych gatunków pajaków”.

Ocena tytułu dysertacji – problematyki badawczej

Tytuł rozprawy jest zgodny z problematyką przedstawioną przez Doktorantkę w jej treści. Projekt, który realizowała celem przygotowania pracy, podzieliła na dwa etapy. W pierwszym zajęła się charakterystyką odpowiedzi immunologicznej pajaków, *Parasteatoda tepidariorum* oraz *Pardosa lugubris*, na wczesnych etapach ontogenezy tj. w okresie rozwoju zarodkowego, a w drugim analizowała reakcje odpornościowe form wolnożyjących tj. po wykluciu z jaj – a konkretniej samic niedojrzałych i dojrzałych płciowo. Bardzo szczegółowo określiła pytania badawcze. Poszukiwanie odpowiedzi na te pytania, miało za zadanie weryfikację słuszności siedmiu hipotez. Jako wprowadzenie do cyklu badań Pani Agnieszka zaproponowała ustalenie, czy usunięcie ścian kokonu, w którym rozwijają się zarodki pajaków (określanego bierną ochroną przed potencjalnymi patogenami), skutkuje mobilizacją ich układu odpornościowego. Pomysł na takie badania uważam za bardzo trafiony, bo literatura dotycząca zagadnienia jest wyjątkowo skromna. Zadanie to zostało podzielone na etapy – w pierwszym Doktorantka weryfikowała słuszność założenia, że od początku embriogenezy zarodki wykazują zdolność do odpowiedzi odpornościowej, z kolei w drugim, że zdolność ta wykształca się dopiero w okresie ukończenia organogenezy. Takie rozróżnienie jest bardzo ważne dla rozumienia ewolucji układów odpornościowych zwierząt, z systemowym podejściem do tego problemu, jakie prezentuje intensywnie rozwijający się na świecie nurt badań - EvoDevo. Z kolei powiązanie trybu życia, przebiegu ontogenezy z mechanizmami leżącymi u podstaw obrony organizmu przed patogenami i mechanicznymi uszkodzeniami ciała, to niewątpliwie ciekawe i wartościowe z poznawczego punktu widzenia zagadnienie, które można śmiało zaklasyfikować do obszaru zainteresowania równie dynamicznie rozwijającej się ekofizjologii zwierząt. Za doskonały uważam pomysł wyboru gatunków, które badała Pani Agnieszka, reprezentujących organizmy semelparyczne i iteroparyczne. Z tego co wiem, analogicznych porównań, do tych które przeprowadziła, a więc rozpatrujących kontekst inwestycji w działanie układu odpornościowego u obu grup zwierząt, dotychczas nie przeprowadzono. Działanie układu odpornościowego musi zmieniać się w

czasie ontogenezy, szczególnie, że towarzyszy dynamicznym zmianom jakim podlega organizm, nabywając kolejnych kompetencji do pełnienia funkcji, w tym tej szczególnie istotnej, jaką jest rozród. Zagadnienie to nie jest dobrze opracowane w literaturze dla pajaków. Stąd uważam, że porównanie aktywności układów odpornościowych samic niedojrzałych i dojrzałych płciowo, a także wyniki analiz prowadzonych celem ustalenia czy liczba czynników immunostymulujących wywołuje odmienne odpowiedzi organizmu, w kontekście jego starzenia, dostarczyły kilku cennych informacji, które na pewno wzbudzą zainteresowanie środowiska arachnologów.

Ocena merytoryczna dysertacji

Współczesna immunologia porównawcza dostarcza znaczącej liczby danych o mechanizmach odpornościowych owadów, skorupiaków i pierścienic. Jednak nadal niewiele wiadomo o funkcjonowaniu i dojrzewaniu układu odpornościowego pajęczaków. Dlatego, moim zdaniem, Doktorantka dokonała bardzo słusznego wyboru, podejmując się zrealizowania złożonego projektu, który dotyczy właśnie tych zagadnień. Dzięki czemu stała się specjalistką, a w przypadku niektórych osiągnięć także pionierką, w zakresie badań nad fizjologią i ekofizjologią pajaków. Przedstawiła wartościowe wyniki, które przybliżają nas do zrozumienia jak przebiega rozwój i jak działa na poziomie biochemicznym oraz fizjologicznym układu odpornościowy u tych zwierząt. Zawsze o wartości badań, poza samym pomysłem i trafnym formułowaniem hipotez, świadczy to, jakich użyto metod. Szczególnie tych, które gwarantują falsyfikację własnych tj. autorskich twierdzeń. W tym zakresie Pani Agnieszka wykazała się naukowym podejściem, co znajdziemy w obszernych uzasadnieniach dla hipotez, w konsekwentnym, krok po kroku realizowaniu eksperymentów tj. takim ich rozplanowaniu, aby na bazie otrzymywanych sukcesywnie wyników poszerzać zakres rozwiązywanych problemów, oceniając równolegle słuszność stawianych tez i formułowanych wniosków. Metody wykorzystane w każdym eksperymencie oceniam jako w pełni adekwatne do wytyczonego celu, czyli takie, które pozwoliły na uzyskanie wartościowych wyników, aby można było poddać je debacie i ocenie naukowej. Liczba i zróżnicowanie użytych przy realizacji projektu technik badawczych jest duża, co pozwala stwierdzić, iż Pani Agnieszka zdobyła doświadczenie w pracy laboratoryjnej, i jest doskonale przygotowana do prowadzenia badań naukowych, w tym polegających na samodzielnie zaprojektowanych eksperymentach. Nieobce są Jej metody molekularne związane z analizą ekspresji genów na poziomie transkryptów i białek, metody badań komórkowych z użyciem cytometrii, metody mikroskopowe, a także mikrochirurgia, pozwalająca na pracę z bardzo małymi zwierzętami. Na podstawie opisów w części metodycznej, a także wynikowej, dysertacji wnioskuję, że Pani Czerwonka doskonale rozumie mechanizmy leżące u podstaw stosowanych technik i jest w nich biegłą. Wartość wyniku uzyskanego w grupie badanej dyktuje możliwość jego odniesienia do wyniku w dobrze dobranej grupie kontrolnej. Na tym polu Pani Czerwonka wykazała się dobrymi umiejętnościami planowania i prowadzenia eksperymentów. W przeważającej liczbie wykonanych analiz grupy kontrolne są odpowiednio dobrane. W tym zakresie mam zaledwie jedną uwagę – dotyczy ona przeprowadzenia badań z zastosowaniem testów ELISA, ale o tym pozwałam sobie wspomnieć poniżej. Równie wysoko oceniam umiejętności Pani Agnieszki w zakresie przedstawienia problemu na tle literatury naukowej. Zarówno wprowadzenie, jak i dyskusja są rozdziałami bardzo dobrze

przemyślanymi. Co uważam za duży sukces, to bardzo umiejętne skonstruowanie wstępu, który ma nieocenioną wartość edukacyjną, jest przeglądem literatury, zarówno nowej, jak i starszej (co bardzo doceniam) i śmiało może być traktowany jako wartościowy rozdział monografii naukowej. Szczerze powiem, że tak dobrze opracowanego wstępu nie spotkałem jeszcze w żadnej pracy dyplomowej, dlatego w tym miejscu pozwolę sobie zadać pierwsze pytanie dotyczące dysertacji – czy Pani Agnieszka zgodzi się, abym używał go w mojej pracy dydaktycznej na uczelni, podczas prowadzenia zajęć z fizjologii bezkręgowców? Oceniając wstęp uważam, że jest on trafiony „w punkt” tj. nie ma w nim ani za dużo informacji, ani za mało, sens podjęcia wysiłków związanych z rozwiązaniem problemów jest doskonale uzasadniony. Równie dobrze poprowadzona jest dyskusja. Pod względem merytorycznym nie mam do niej zastrzeżeń. Choć pewne wnioski zaproponowane przez Doktorantkę uważam za zbyt śmiałe – szczególnie te dotyczące gromadzenia się komórek apoptotycznych wokół skrzepu powstającego w miejscu zranienia ciała.

Ocena nowatorskiego rozwiązania problemu badawczego

Pracę oceniam jako nowatorską. Przedstawione w niej wyniki uważam za solidne, a ich opracowanie lepsze niż w wielu dobrze cytowanych publikacjach z zakresu fizjologii pajaków, na które Doktorantka powołuje się we wstępie i w dyskusji. Pani Agnieszka podjęła próby charakterystyki układu odpornościowego na tle ontogenezy, co już stanowi *novum*, a ponadto prowadziła badania na dwóch gatunkach, które pod tym względem nie były charakteryzowane. Jeden z nich *Parasteatoda tepidariorum*, to gatunek modelowy - chciałoby się powiedzieć, choć badania z zakresu fizjologii prowadzone na nim, tak jak i innych pajęczakach, są niestety bardzo skromnie reprezentowane w literaturze. Dyplomantka dostarczyła zatem wartościowych danych do rozważań dla dziedziny, która zaczyna się intensywnie rozwijać, bo jak inaczej określić działania środowiska badaczy, które zaowocowały poznaniem genomu tego gatunku. Dyplomantka podjęła próbę identyfikacji białek i peptydów antydrobnoustrojowych, które są syntezowane w organizmach obu badanych gatunków pajaków. I choć uzyskane wyniki należy traktować jako wstępne, to są one niezmiernie wartościowe i zupełnie nowe dla nauki. Uzasadnieniem podjęcia takich działań było niewątpliwie ogromne zainteresowanie biotechnologii i nauk biomedycznych nowymi substancjami bakteriobójczymi, bakteriostatycznymi, grzybobójczymi i przeciwwirusowymi. Badania Pani Agnieszki są zatem pierwszym krokiem w poszukiwaniu substancji o takim potencjale u obu gatunków pajaków, co oczywiście oceniam bardzo wysoko. Niewątpliwym i równie cennym osiągnięciem jest wskazanie etapów w rozwoju badanych pajaków, gdy dochodzi u nich do formowania się funkcjonalnego układu odpornościowego. Są to nowe informacje, których nie znajdziemy w literaturze. Jestem pewien, że po opublikowaniu, wyniki te wzbudzą niemałe zainteresowanie wśród arachnologów. *Novum*, to również wyniki analiz ekspresji czynników zaangażowanych w odpowiedź na reakcje stresowe organizmu. Choć wiele spośród przebadanych przez Doktorantkę genów charakteryzowano już w kontekście ich pozytywnej lub negatywnej regulacji u pajęczaków, w różnych warunkach (w tym stresowych), to nie wykonano tak kompleksowych analiz u jednego gatunku (w tym przypadku dwóch), dyskutując uzyskane wyniki na tle ontogenezy przedstawicieli tej grupy zwierząt. Reasumując uważam, że zaprezentowane w dysertacji wyniki są w pełni nowatorskie.

Ocena doboru i wykorzystania źródeł

Przygotowując dysertację Pani Agnieszka wykorzystwała wiele prac naukowych - w sumie 239 pozycji, w tym oryginalne oraz przeglądowe artykuły, rozdziały w książkach oraz internetowe bazy danych. Prace używa jako źródła informacji do zaprezentowania tła dla badań i kierunku rozumowania, który zaowocował pomysłem na zrealizowany projekt. Ponadto powołuje się na nie formułując cele, pytania i hipotezy badawcze, wzoruje się na publikacjach metodycznych, wykonując eksperymenty oraz dyskutuje własne wyniki w oparciu o znane i publikowane dane. W każdym z tych przypadków prace wykorzystwała bardzo dobrze - są one cytowane adekwatnie do zapotrzebowania, dając czytelnikowi pewność, że Autorka zna się na rzeczy - jest profesjonalistką w swoim fachu. Dlatego nie mam wątpliwości, że Pani Agnieszka zdobyła umiejętność posługiwania się danymi literaturowymi do samodzielnego przygotowania prac naukowych.

Ocena formalnej strony pracy (poprawność języka, opanowanie techniki pisania pracy)

Jako że przygotowanie rozprawy doktorskiej jest warunkiem koniecznym do spełnienia, aby uzyskać stopień naukowy, oczywistym wydaje się, że użyty w niej język wypowiedzi powinien być profesjonalny, konstrukcja odpowiadająca wymogom stawianym pracom naukowym, a jej treść musi być jednoznaczna i relatywnie łatwą w odbiorze - także dla czytelników niebędących ekspertami w dziedzinie. Każdy z tych warunków jest spełniony w przypadku ocenianej rozprawy. Ma ona strukturę klasyczną tj. tworzą ją rozdziały, które znajdziemy prawie w każdej pracy naukowej tematyką obejmującej problemy nauk ścisłych i przyrodniczych. Każdy z rozdziałów i podrozdziałów zawiera właściwe im treści tj. zgodne z ich tytułami. Język wypowiedzi w dysertacji jest w pełni profesjonalny, ale na tyle prosty, że osoby niezaznajomione z jej tematyką swobodnie mogą zapoznać się problemami określonymi przez Doktorantkę. Praca zawiera dobrze opracowane zestawienie używanych skrótów (które moim zdaniem nie jest potrzebne), bo na szczęście każdy z nich jest kilkukrotnie wytłumaczony w tekście (zatem czytając rozprawę nie trzeba ciągle wracać do jej początku, gdzie zestawie skrótów zostało umieszczone). Spis treści jest dobrze wykonany, co zdecydowanie ułatwia czytanie, a w szczególności jest ukłonem w kierunku recenzentki/recenzenta, bo pozwala na szybkie odszukiwanie informacji celem ich porównania, czy przypomnienia sobie. Doktorantka zawarła w dysertacji 25 rycin - większość z nich jest dobrze przygotowana i czytelna, a te do których prezentacji mam zastrzeżenia, omawiam poniżej. Zatem uważam, że Pani Agnieszka posiadała umiejętność pisania prac naukowych - śmiało można uznać, że jest samodzielną badaczką, która potrafi prezentować swoje osiągnięcia.

Sposób wykorzystania pracy (publikacja/e, materiał źródłowy)

W dysertacji znajdziemy wiele nowych, nieznanych nauce danych, które moim zdaniem powinno doczekać się jak najszybszego opublikowania. Uważam, że Doktorantka ma szansę przygotować na ich podstawie manuskrypty, które doczekają się publikacji w czasopiśmie o wysokim współczynniku IF i bez wątpienia, w krótkim czasie, wzbudzą

zainteresowanie poświadczane dużą liczbą ich cytowań. Praca może stanowić ważny materiał źródłowy dla Pani Agnieszki oraz Jej Współpracowniczek i Współpracowników, podczas planowania badań i formułowania hipotez, które zostaną zawarte w projektach obejmujących tematyką fizjologię i ekofizjologię pajaków. Zatem oceniam dysertację jako wartościowe źródło danych, które może być upublicznione w formie oryginalnych publikacji naukowych o dużej wartości.

Inne uwagi

Oceniając dysertację recenzentki i recenzenci zwykle proszą autorkę lub autora o ustosunkowanie się do uwag, lub co lepiej brzmi, wyjaśnienie nieścisłości, które zauważyli zapoznając się z jej treścią. Pozwalam sobie przedstawić w punktach moje uwagi, prosząc jednocześnie Panią Magister, aby ustosunkowała się do nich podczas publicznej obrony.

1. Na stronie 16 pojawiają się informacje o tym, że zwierzęta z otwartym układem krwionośnym są bardziej narażone na utratę dużej ilości krwi przy niewielkim uszkodzeniu powłok ciała niż (w domyśle) zwierzęta o zamkniętym układzie krwionośnym. Moim zdaniem takie uogólnienie nie jest uprawnione, bo wiele zwierząt z otwartym układem krwionośnym ma na tyle dobrze rozwinięty układ otwartych naczyń oraz tak zbudowane powłoki ciała, że przy ich uszkodzeniu utrata krwi lub hemolimfy jest minimalna. Przykładem może być wiele gatunków mięczaków np. ślimaków i małżów. Z kolei u wstężnic, których układ krwionośny powstaje na drodze schizocelii i jest uznawany za zamknięty, przerwanie powłok ciała łatwo prowadzi do wypływu krwi i mieszania się płynu jamy ciała z wodą, w której żyją te zwierzęta. Proszę, aby Pani Agnieszka doprecyzowała swoją wypowiedź i określiła jakie zwierzęta miała na myśli zawierając taką informację w dysertacji.
2. Podobnie proszę o uściślenie informacji o zwierzętach z otwartym układem krwionośnym, u których patogeny mogą bardzo szybko rozprzestrzeniać się w organizmie. Na pewno nie dotyczy to reprezentantów tych grup, które mają otwarty układ krwionośny z licznymi i bardzo licznymi zatokami i dobrze rozwiniętymi, otwartymi naczyniami krwionośnymi.
3. Na stronie 22 znajdziemy informację, że struktura lizozymu owadów i kur jest podobna – myślę, że tu Pani Agnieszce chodziło o gatunek zwany kurą domową, a nie kury w ogóle, czyli samice kurowatych.
4. Na stronie 25 znajduje się informacja o tym kiedy u owadów w czasie dojrzewania oocytu powstaje błona żółtkowa i chorion. Zdaniem Doktorantki odbywa się to podczas składania jaj, co nie jest prawdą – proces ten zachodzi wcześniej, w jajnikach, zwykle wkrótce po zakończeniu pobierania witellogenin przez oocyt i pod osłonką komórek folikularnych. Prosiłbym o sprostowanie i wytłumaczenie, jak mniemam, zastosowanego w tym miejscu skrótu myślowego.
5. Kilka akapitów dalej (str. 26) znajdziemy informację o tym, że czynnikiem stymulującym układ odpornościowy do działania jest promieniowanie – takie stwierdzenie ponownie jest skrótem, bo nie wiemy o jakie promieniowanie chodzi. Z kolei wśród immunostymulantów Doktorantka nie wymienia światła, które jest jednym z najsilniejszych bodźców wpływających na homeostazę i ewolucję zwierząt i które jest niczym innymi jak promieniowaniem

elektromagnetycznym. Prosiłbym o doprecyzowanie informacji, które Pani zawarła we wspomnianym akapicie.

6. Formułując cele badawcze Doktorantka postawiła kilka ważkich pytań. Mam jednak pewną wątpliwość do pytania #2, które *de facto* odnosi się do metod wspomnianych przy opisie precyzującym pytanie #1. To w efekcie powoduje, że hipoteza #1 i hipoteza #2a są tożsame. Czyli weryfikacja ich słuszności doprowadzi do odpowiedzi na to samo pytanie – innymi słowy, znając odpowiedź na pytanie #1 uzyskamy odpowiedź na pytanie #2. Proszę o komentarz na ten temat, podczas publicznej obrony.
7. Będę wdzięczny za wyjaśnienia dotyczące procedury ELISA użytej do oznaczania poziomu białek w próbach. Czy pomiary różnych białek wykonała Pani na tych samych, czy różnych płytkach? Jeśli na różnych, to przedstawienie i analiza statystyczna porównująca ilościowo dwa białka na jednym wykresie może być podważana. A to ze względu na zmienność warunków, w jakich pomiary przeprowadzono, np. z powodu zwykłych błędów, które zawsze powstają podczas wykonywania oznaczeń. Czy może jednak wykonała Pani pilotażowe analizy, które potwierdziły słuszność zaplanowania takiego układu oznaczeń, który uzasadnił możliwość wykonania ich na różnych płytkach? Przykładowo, poprzez wyrywkowe badanie różnych białek w kilku próbkach, na tej samej płytce wraz z odpowiednimi kontrolami? Drugie pytanie dotyczy doprecyzowania tego, jak oznaczano białka – w pracy brakuje bowiem informacji o czułości metody, o przygotowaniu płytek do procedury; potrzebna jest także dokładniejsza charakterystyka użytych przeciwciał pierwszorzędowych. Rozumiem także, że jednostki określające ilość badanych białek na osi Y wykresów z rycin 15, 16, 17, 21 i 22 to wynik błędu, który się wkradł podczas edycji tekstu na rysunku – ilość ta jest wyrażona w $\mu\text{g/ml}$ białka całkowitego w próbie, a chyba powinna być wyrażona w $\mu\text{g/mg}$ białka całkowitego, tak jak omawia to Pani w rozdziale metodycznym. I moje ostatnie pytanie dotyczące analiz wykonanych testem ELISA – dlaczego porównywała Pani ze sobą stężenie lizozymu i defensyny. O ile nie widzę problemu z zestawieniem tych wyników na jednym wykresie, to nie rozumiem po co wykonała Pani analizę statystyczną dla porównania istotności różnic między wartościami określającymi stężenie dwóch różnych białek. Będę wdzięczny za skomentowanie tych analiz. Proszę także o komentarz do analogicznego porównania ilości lizozymu i HSP 70 z rycin 21 i 22.
8. Proszę o wyjaśnienie, dlaczego do rozdziału białek wykorzystowała Pani żel o wyjątkowo niskiej gęstości (5%), w sytuacji, gdy interesowały Panią białka o średniej i wysokiej masie molekularnej. Przy analizie takich molekuł zwykle korzystamy z żeli gradientowych lub zawierających najmniej 8-10% poliakrylamidu. Czy nie obawiała się, że Pani, że utraci wiele interesujących prążków rozwijając taki żel, np. peptydów i polipeptydów o niskiej masie molekularnej? Tę wątpliwość rozwiązałoby pokazanie na sfotografowanych żelach prążków użytego markera masy molekularnej, a nie tylko zaznaczenie miejsc ich położenia.
9. Rycina 11., po prostu wymaga naniesienia oznaczeń. Poza opisem, czego dotyczą zdjęcia, żadna struktura ani komórka na fotografiach nie jest wskazana. Proszę Panią Doktorantkę o uzupełnienie tej ryciny i zaprezentowanie jej podczas obrony.
10. W tabeli 4 zamieściła Pani informacje o wielu białkach, ale te białka nie zostały wskazane na obrazach żeli (np. przy pomocy

strzałek o różnych kolorach). Dobrze byłoby zaprezentować je czytelnikom oraz podczas obrony.

11. Odnosząc się do wyników pokazanych na rycinie 14 chciałbym zapytać, czy po wykazaniu obecności transkryptów, poddała je Pani analizie jakościowej, tzn. czy potwierdziła, że prążki faktycznie reprezentują interesujące Panią geny. Przykładowo poddając fragmenty sekwencjonowaniu, albo bezpośrednio po wyizolowaniu z żelu, albo po wcześniejszym wkłoniowaniu ich do plazmidu? Czy zaprojektowane startery obejmowały, przynajmniej u *P. tepidariorum*, intron, aby wykluczyć amplifikację fragmentu genomowego? Te same pytania dotyczą wyników przedstawionych na rycinie 20.
12. Na rycinie 19. pokazany jest obraz membrany z białkami zidentyfikowanymi metodą Western blottingu. Na obrazie nie wskazała Pani prążków i nie określiła w podpisie jakie białka zostały wykryte. Dobrze byłoby dokładniej zaprezentować je podczas obrony.
13. Mam niewielką uwagę do prezentowania wyników na rycinie 24. Proponowałbym, aby kolor słupków wskazujących procent martwych komórek na wykresie „b” był inny niż czarny, bo czarny zakrywa kolor wąsów określającymi błędy, w związku z czym nie wiadomo jaką mają one wartość.
14. Chciałbym także prosić, aby Pani Agnieszka opowiedziała o wynikach, które uzyskała immunizując pająki za pomocą włókien nylonowych. Brakuje bowiem informacji, czy postymulacji włóknem z bakteriami, ale też włóknem sterylnym, dochodziło do gromadzenia się komórek hemolimfy na powierzchni takich włókien – pograżonych w jamie ciała (nie tylko w okolicy skrzepu). Szczególnie, że w pracy zaprezentowane są piękne wyniki obrazujące pokrycie włókien bakteriami. Takie omówienie wydaje mi się niezbędne do uszczegółowienia dyskusji. Bo nie przekonuje mnie teza postawiona przez Panią Agnieszkę na stronie 94., że obserwowany proces to enkapsulacja – przynajmniej w oparciu o pokazane wyniki.
15. Sposób przedstawienia wniosków jest dość nietypowy. Doktorantka opatrzyła każdy z nich obszernymi komentarzami. W pierwszym odruchu oceniłem, że to raczej obszerne podsumowanie a nie wnioski, ale po namyśle uważam, że takie autorskie podejście jest ciekawe i absolutnie akceptowalne w rozprawie doktorskiej. Moją wątpliwość budzi jedynie wniosek #5, a właściwie komentarz do tego wniosku. Uważam, że jest nieuprawniony, bo poza immunostymulacją Doktorantka nie badała inwestycji pajaków w produkcję potomstwa i związku tego procesu z nakładami energetycznymi ponoszonymi na rzecz mobilizacji układu immunologicznego.
16. Na koniec kilka uwag edytorskich i dotyczących wypowiedzi.

Proponuję nie używać pojęcia „organizm żywy” bo istotą każdego organizmu jest życie – wystarczyłoby zatem określenie „organizm”.

Podobnie rzecz ma się z „jajnikami samic” – cechą samic jest to, że mają jajniki, więc niepotrzebne jest dodawanie „samic” do „jajników”, gdy mowa o zwierzętach rozzdzielno płciowych.

Podobnie sprawa ma się z „drogami rodnymi samic”, tylko samice je posiadają, więc nie trzeba do wypowiedzi dodawać „samic”.

Z kolei pojęcie „zapłodnienie” dotyczy aktu wniknięcia plemnika do oocytu (w większości przypadków), zatem stwierdzenia „zapłodnione pająki” lub „niezapłodnione pająki”, dość dziwnie brzmią.

Nie istnieje pojęcie „zanestezjowany” - proponowałbym w zamian „uśpiony”, „poddany anestezji”, „znieczulony”.

Do opisu masy białek zwykle stosujemy określenia „niska-”, „średnia-” i „wysoka- masa molekularna, a nie „niskocząsteczkowa masa”.

I ostatnia uwaga - na str. 87., zapewne stosując skrót myślowy, Doktorantka pisze o podjęciu próby wykrycia genów kodujących interesujące ją białka. Nie jest to prawdą, bo w rzeczywistości analizowała obecność transkryptów znanych wcześniej genów.

Wylistowane powyżej nieścisłości nie umniejszają wartości merytorycznej ocenianej dysertacji, a przede wszystkim jakości badań, które wykonała Pani Agnieszka. Jestem pod dużym wrażeniem pomysłów, ich realizacji i szczerze doceniam gargantuiczną pracę jaką wykonała realizując ten wyjątkowo wymagający projekt. **Dlatego pozwolę sobie wnioskować o wyróżnienie ocenionej rozprawy i nagrodzenie Pani Magister za jej wykonanie stosowną nagrodą, przewidzianą regulaminem Uniwersytetu Śląskiego.**

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego oraz z nawiązką spełnia wymogi art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r., poz. 882 z późn. zm.), w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r., poz. 1669), a w przypadku gdy rozprawę doktorską stanowi samodzielna i wyodrębniona część pracy zbiorowej, także ocenę indywidualnego wkładu kandydata w powstanie tej pracy (§ 6 ust. 5 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz postępowaniu o nadanie tytułu profesora).

W związku z powyższym, zwracam się z wnioskiem do Rady Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego o przyjęcie ocenionej rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Agnieszki Czerwonki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Łączę wyrazy szacunku,

Piotr Bębas

