

dr hab. Małgorzata Kozieradzka-Kiszkurno, prof. UG
Katedra Cytologii i Embriologii Roślin
Wydział Biologii Uniwersytetu Gdańskiego
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk

Gdańsk, dnia 6 maja 2022 roku

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej

pt. „*Rola plazmodesm w regulacji różnicowania komórek na przykładzie Arabidopsis*”

wykonanej w zespole Biologii Komórki Roślinnej
Wydziału Nauk Przyrodniczych, Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Kurczyńskiej

Plazmodesmy (PD) w świecie roślin są unikalnym systemem komunikacji międzykomórkowej. Te dynamiczne struktury wraz z komunikacją symplastową stanowią bardzo istotny czynnik wpływający na regulację różnicowania komórek oraz morfogenezę roślin. Nasza wiedza dotycząca ultrastruktury plazmodesm oraz mechanizmów regulujących ich funkcjonowanie jest coraz pełniejsza dzięki m.in. narzędziom mikroskopii elektronowej, ale nie wiadomo jeszcze wszystkiego o tych „małych”, ale jakże ważnych strukturach ściany komórkowej. W zespole Pani prof. Ewy Kurczyńskiej od wielu lat prowadzone są z powodzeniem liczne badania nad komunikacją symplastową i jej rolą w rozwoju roślin.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska jest konsekwencją kontynuacji tych badań. Wybór zarówno tematu, jak i dróg prowadzących do końcowych wyników uważam za w pełni uzasadnione.

Rozprawa doktorska Pani mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej to zbiór 3 oryginalnych publikacji naukowych w: *Journal of Experimental Botany*, *Frontiers in Plant Science* i *Functional Plant Biology*. Ponadto w jej skład wchodzi 1 artykuł przeglądowy w *Postęпах Biochemii*, który

został przygotowany na zaproszenie do specjalnego numeru poświęconemu zagadnieniom związanym z biologią rozwoju roślin oraz 2 rozdziały w „*Methods in Molecular Biology: Protocol Book on Plasmodesmata*”, które zostały napisane na zaproszenie tym razem redaktorów wydawnictwa Springer. Wszystkie artykuły oraz rozdziały metodyczne wchodzące w skład rozprawy doktorskiej poddane zostały rzetelnym i skrupulatnym recenzjom przez międzynarodowe grono ekspertów w rygorystycznym procesie redakcyjnym. Prace te stanowią spójną tematycznie i logicznie całość, zostały opatrzone wspólnym opracowaniem. Oświadczenia Doktorantki, promotora oraz współautorów prac nie pozostawiają wątpliwości, że mgr Kamila Godel-Jędrzychowska odegrała kluczową rolę w ich powstawaniu, zarówno we współudziale w opracowaniu koncepcji badań, na etapie przygotowywania materiału do badań i jego analizy oraz opracowania wyników i przygotowaniu prac do druku. W pięciu pracach cyklu Doktorantka jest pierwszym autorem a w czterech autorem korespondencyjnym.

W rozprawie doktorskiej wszystkie prace naukowe zostały umieszczone w jednym tomie i towarzyszy im dwudziestostronicowy rozdział zatytułowany „*Autoreferat*”. Rozdział ten posiada typowy układ podrozdziałów dla prac naukowych. Rozpoczyna się on „*Wprowadzeniem*”, w którym Doktorantka w zwięzły sposób przedstawia podjęty problem badawczy. Opisała ona budowę i morfologię plazmodesm, następnie wprowadziła termin domeny symplastowej i dokonała przeglądu literatury dotyczącej udziału komunikacji symplastowej w rozwoju roślin zarówno w trakcie embriogenezy zygotycznej jak i somatycznej. Zagadnienia te mgr Godel-Jędrzychowska przedstawiła w sposób świadczący o bardzo dobrej znajomości danych literaturowych i odpowiednim przygotowaniu do przeprowadzenia zaplanowanych badań. Następnie Doktorantka przechodzi do podrozdziału „*Cel przeprowadzonych badań*”, w którym przedstawia realizowane cele zarówno te główne jak i szczegółowe oraz drogi ich realizacji. Celem badań było m. in. poznanie zależności między stanem funkcjonalnym plazmodesm, ich liczbą i ultrastrukturą a różnicowaniem komórek w trakcie embriogenezy somatycznej *Arabidopsis*. Analizie poddano również komunikację symplastową między komórkami realizującymi odmienne programy rozwojowe. W badaniach wykorzystano różne linie transgeniczne. Cele, które stawia Doktorantka są bardzo precyzyjne i spójne. Warsztat naukowy Doktorantki jest imponujący i obejmuje szeroki wachlarz metod i technik m.in. z zakresu mikroskopii świetlnej w tym fluorescencyjnej i konfokalnej, a także transmisyjnej mikroskopii elektronowej

dającej wiedzę o ultrastrukturze w wymiarze 2D oraz tomografii elektronowej pozwalającej na trójwymiarową rekonstrukcję ultrastruktury komórek i plazmodesm w wysokiej rozdzielczości. Ogromnym atutem pracy doktorskiej jest włączenie przez Doktorantkę 2 rozdziałów metodycznych, w których dokładnie opisuje metodykę zastosowaną w analizie plazmodesm i komunikacji symplastowej. Wykorzystane metody badań są adekwatne do postawionych celów i dowodzą o świetnym przygotowaniu metodycznym Doktorantki oraz doskonałym planowaniu przez Nią warsztatu badawczego. Najobszerniejszy podrozdział „Wyniki i dyskusja” poświęcony jest omówieniu i przedyskutowaniu uzyskanych wyników badań zgodnie z kolejnością stawianych sobie zadań badawczych i prac umieszczonych w rozprawie doktorskiej. Podrozdział ten napisany jest logicznie i zwięźle przy użyciu poprawnej terminologii naukowej. Doktorantka umiejętnie wykorzystuje dostępną literaturę. Po przeglądzie literaturowym liczącym 90 pozycji, stanowiącym wprowadzenie do prowadzonych badań znajduje się rozdział pt. „Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej”, w którym znajdują się prace stanowiące cykl ocenianej rozprawy doktorskiej. Rozprawa obejmuje również podsumowanie badań oraz siedem ogólnych wniosków końcowych i także streszczenia w języku polskim i angielskim oraz oświadczenia Doktorantki i pozostałych współautorów publikacji.

W pierwszej z prac, opublikowanej w czasopiśmie *Journal of Experimental Botany* wykazano, że zmianom kierunku różnicowania komórek towarzyszą zmiany komunikacji symplastowej, które wynikają ze zmian SEL (ang. *size exclusion limit*) plazmodesm. Potwierdzono, że kaloza przez blokowanie przemieszczania się cząsteczek poprzez plazmodesmy, jest niezbędnym czynnikiem, który warunkuje zmiany kierunku różnicowania komórek i tym samym embriogenezę somatyczną. Stwierdzono też współzależność pomiędzy poziomem auksyny i występowaniem kalozy, a zmianą kierunku różnicowania komórek co jest pierwszym doniesieniem dotyczącym embriogenezy somatycznej. W drugiej z cyklu prac stanowiących rozprawę doktorską wykazano, że domeny symplastowe, które powstają w zarodkach somatycznych, pod względem jakościowym, są podobne do domen symplastowych w zarodkach zygotycznych i odpowiadają wykształcaniu się osi apikalno-bazalnej. Zaś w zarodkach somatycznych SEL PD na granicy domen odpowiadającym organom zarodkowym powstają na wcześniejszych etapach rozwoju w porównaniu do zarodków zygotycznych. Wykazano również, że kaloza jest czynnikiem kontrolującym przepuszczalność PD.

W trzeciej pracy wykazano różnice w liczbie PD pomiędzy i w obrębie wyszczególnionych domen symplastowych w eksplantatach i zarodkach somatycznych. W czwartej pracy, która jest artykułem przeglądowym Doktorantka wraz z promotorem pracy dokonała przeglądu literatury dotyczącego komunikacji symplastowej jako nadkomórkowego systemu regulacji różnicowania komórek. W dwóch ostatnich pracach, które mają charakter metodyczny dokładnie opisano przygotowanie materiału do analiz przemieszczania fluorochromów przy użyciu mikroskopii fluorescencyjnej, w tym konfokalnej oraz uzyskania przestrzennego obrazu rozmieszczenia plazmodesm dzięki tomografii elektronowej wraz z analizą obrazów mikroskopowych. Obie przedstawione metody zostały wykorzystane w artykule opublikowanym w *Journal of Experimental Botany*.

W mojej ocenie pani mgr Kamila Godel-Jędrzychowska bardzo dobrze wywiązała się z podjętych zadań badawczych i zrealizowała założone cele pracy.

Za najbardziej wartościowe w pracy doktorskiej uważam:

- Wykazanie związku między przepuszczalnością, liczbą i morfologią PD a zmianami kierunku różnicowania komórek,
- Wykazanie powstawania domen symplastowych, w trakcie embriogenezy somatycznej, w skład których wchodzi komórki realizujące odmienne programy rozwojowe,
- Wykazanie znaczenia izolacji symplastowej w różnicowaniu komórek, co potwierdzają badania lokalizacji kalozy oraz eksperymenty, w których blokowano syntezę kalozy,
- Wykazanie czasowo-przestrzennego podobieństwa i różnic między powstającymi domenami symplastowymi a wykształcaniem się osi apikalno-bazalnej oraz zróżnicowania tkankowego w zarodkach zygotycznych i somatycznych,
- Wykazanie różnic w liczbie PD pomiędzy i w obrębie wyszczególnionych domen symplastowych w eksplantatach i zarodkach somatycznych.

Nie mam zastrzeżeń do jakości wyników przedstawionych w rozprawie oraz sposobu ich interpretacji i udokumentowania. Rozprawa doktorska została napisana poprawnym językiem naukowym i

starannie zredagowana. Tekst pracy jest zwarty i logiczny a stosowana terminologia nie budzi zastrzeżeń. Ilość błędów redakcyjnych jest znikoma, a potknięcia stylistyczne, gramatyczne i interpunkcyjne są nieliczne i nie wpływają na wysoką ocenę pracy. Bardzo pozytywne wrażenie dostarcza dokumentacja fotograficzna. Jest ona bardzo dobrej jakości, co jest standardem w pracach wykonywanych pod kierunkiem Pani prof. Ewy Kurczyńskiej. Wyniki badań przedstawione w dysertacji doktorskiej w znaczący sposób uzupełniają naszą wiedzę o plazmodesmach, komunikacji symplastowej w trakcie embriogenezy somatycznej i zygotycznej, ale też dostarczają nowych danych odnośnie roli plazmodesm i komunikacji symplastowej w różnicowaniu komórek.

Z obowiązku recenzenta poniżej przedstawiam kilka uwag dotyczących tych usterek:

Tekst rozprawy zawiera kilkanaście błędów literowych (Spis Treści w.7 zarodach – zamiast zarodkach; s. 9 w. między – między; s. 16 w. (SAM; ang. shoot apical merystem) – (SAM; ang. shoot apical meristem); s. 18 w. 4 hipototyła – hipokotyła; s. 19 w. 7 pratanki – pratkanki; s. 19 w. 26 adkasjalenej – adkasjalnej; s. 19 w. 34 wstępuje – występuje; s. 20 w. 41 nanorurkek – nanorurek; ponadto s. 13 w. 20-21 i 30 – wartości dziesiętne powinny być oznaczone po przecinku, a nie po kropce – jak to ma miejsce w języku angielskim) oraz pojedyncze uchybienia gramatyczne (s. 8 w. 5, s. 17 w. 17, 36, 40 oraz s. 18 w. 3, 5 s. 19 w. 3 s. 20 w. 24 stadium torpedo – stadium torpedy lub torpedowate).

ZAGADNIENIA DO DYSKUSJI

Po przeczytaniu przedstawionej mi do recenzji pracy nasunęły mi się następujące zagadnienia do dyskusji, proszę więc Doktorantkę o ustosunkowanie się do nich:

1. Co z literatury wiadomo na temat organizacji i funkcji ciał Cajala.
2. Jakie są dane literaturowe na temat mechanizmu regulującego przepustowość plazmodesm, który nie jest zależny od kalozy.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska zawiera wyniki wartościowych badań, które w sposób istotny poszerzają naszą wiedzę odnośnie roli połączeń cytoplazmatycznych w regulacji różnicowania komórek u roślin.

Uważam, że praca spełnia wszelkie wymagania określone Ustawą z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 2 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669). W związku z powyższym, przedkładam Wysokiej Radzie Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych, Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach wniosek o dopuszczenie mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, w uznaniu wartościowych, oryginalnych wyników, które zostały opublikowane w specjalistycznych międzynarodowych czasopismach naukowych, rekomenduję wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą.

Małgorzata Kozienadrza-Kiszkurno