

Prof. dr hab. Jerzy Bohdanowicz – profesor emerytowany
Katedra Cytologii i Embriologii Roślin
Wydział Biologii Uniwersytetu Gdańskiego
e-mail: jerzy.bohdanowicz@ug.edu.pl

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Iwony Chłosty pt. „Analizy histochemiczne, ultrastrukturalne i molekularne kultury tkankowej kalusa wyprowadzonego z bielma kiwi *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* A. Chev. (A. Chev.)” wykonanej w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, pod kierunkiem Pani dr hab. Marzeny Popielarskiej-Koniecznej, prof. UJ.

Niniejsza recenzja rozprawy doktorskiej przygotowana została na prośbę z dn. 9 maja 2022 r., którą wystosował Pan prof. dr hab. Andrzej Kozik, Przewodniczący Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Badania nad zmianami zachodzącymi w kulturach tkankowych izolowanego bielma kiwi (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa*) prowadzone są w Zakładzie Cytologii i Embriologii Roślin IB UJ od szeregu lat. Doprowadziły one m.in. do odkrycia szczególnych struktur powierzchniowych bielmowego kalusa organogennego, określonych terminem „protuberances” i wstępnego opisanie morfologiczno-histologicznych i ultrastrukturalnych aspektów ich pojawiania się i rozwoju.

Praca doktorska mgr Iwony Chłosty jest potrzebną kontynuacją tych badań. Wybór zarówno jej tematu, jak i dróg prowadzących do uzyskania końcowych wyników uważam za uzasadniony.



Głównym zadaniem Doktorantki było zweryfikowanie postawionej w rozprawie hipotezy badawczej, zgodnie z którą struktury, zwane protuberances, tworzące się w kalusie organogennym wyprowadzonym z bielma kiwi poprzedzają regenerację pędów przybyszowych i różnią się od pozostałych obszarów kalusa organogennego na poziomie histochemicznym, ultrastrukturalnym i molekularnym. Kolejne hipotezy dotyczą ustalenia czy odpowiednie, sprzężone z płcią, markery molekularne umożliwiają wczesną identyfikację płci regenerantów i kalusa pochodzenia bielmowego kiwi, niezależnie od zawartości jądrowego DNA oraz czy nonaploidalne rośliny zregenerowane z kalusa bielmowego różnią się pod względem wybranych cech morfologicznych od heksaploidalnych roślin uzyskanych z nasion.

Rozprawę doktorską mgr Iwony Chłosty stanowi, stosunkowo spójny tematycznie, cykl trzech angielskojęzycznych, współautorskich artykułów, opublikowanych w międzynarodowym obiegu informacji naukowej w 2021 roku:

1. Czernicka M., Chłosta I., Kęska K., Kozieradzka-Kiszkurno M., Abdullah M., Popielarska-Konieczna M. (2021). Protuberances are organized distinct regions of long-term callus: histological and transcriptomic analyses in kiwifruit. *Plant Cell Reports* 40: 637–665. (<https://doi.org/10.1007/s00299-021-02661-0>).
2. Chłosta I., Kwolek D., Sliwinska E., Góralski G., Popielarska-Konieczna M. (2021). Sex-linked molecular markers identify female lines in endosperm-derived kiwifruit callus and in regenerants. *Plants* 10: 526. (<https://doi.org/10.3390/plants10030526>).
3. Chłosta I., Góralski G., Popielarska-Konieczna M. (2021). Assessment of the value of stomatal size and density as hallmarks of nonaploid kiwifruit plants. *Acta Soc. Bot. Pol.* 90: 909. (<https://doi.org/10.5586/asbp.909>).

Prace ukazały się w czasopismach z listy Journal Citation Reports (JCR). Sumaryczny współczynnik wpływu czasopism z publikacjami tworzącymi rozprawę jest wysoki (IF₂₀₂₁ 10,745), a łączna liczba punktów ministerialnych to 240. Według bazy Web of Science (dostęp 2022.07.08) dwie pierwsze prace były już cytowane odpowiednio 2 i 3 razy, co świadczy o aktualności problematyki badawczej podjętej przez Doktorantkę. Ostatnia praca ukazała się pod koniec ubiegłego roku (2021.10.08) i nie ma jeszcze cytacji. Według oświadczeń dołączonych przez wszystkich współautorów, wkład Doktorantki w powstanie trzech powyższych publikacji został oszacowany odpowiednio na 25, 35 i 35%. Brała udział w prowadzeniu kultur

tkankowych, badaniach molekularnych, analizach statystycznych, analizach ultrastruktury oraz sporządzeniu manuskryptów. W pierwszej publikacji mgr Iwona Chłosta jest drugim autorem, w pozostałych pierwszym. Powyższe dane, zdaniem recenzenta, wskazują na kluczową rolę Doktorantki w przeprowadzeniu badań, opracowaniu ich wyników i przygotowaniu manuskryptów.

Oceniana rozprawa, przedstawiona na 123 stronach wydruku komputerowego, składa się ze strony tytułowej, podziękowań, spisu treści, streszczenia, anglojęzycznego abstraktu oraz kolejnych rozdziałów zatytułowanych: Wstęp, Hipotezy badawcze i cele pracy, Plany i zadania badawcze, Wyniki pracy, Dyskusja, Wnioski końcowe i podsumowanie, Finansowanie, Literatura oraz Załączniki.

Zatem struktura całej rozprawy, jakkolwiek jest to cykl publikacji, jest poprawna, typowa dla prac doktorskich z biologii eksperymentalnej. Brak w niej jedynie wykazu stosowanych skrótów oraz rozdziału Materiały i metody, ale są one zawarte w poszczególnych publikacjach.

Rozdział 3. WSTĘP, liczący 14 stron, Doktorantka rozpoczęła od krótkiego przedstawienia podstawowych informacji dotyczących powstawania tkanki kalusowej i jej hodowli w kulturach *in vitro* [podrozdział 3.1] oraz szczególnych regionach tkanki kalusowej zwanych protuberances [3.2]. W kolejnych podrozdziałach dokonała przeglądu literatury dotyczącej: bielma w badaniach podstawowych i aplikacyjnych [3.3], poliploidów a kultur tkankowych bielma [3.4], determinacji i rozpoznawania płci roślin dwupiennych [3.5.], charakterystyki roślin kiwi [3.6] oraz kultur tkankowych bielma kiwi [3.7.]. Zagadnienia te mgr Iwona Chłosta przedstawiła w sposób świadczący o bardzo dobrej znajomości danych literaturowych i odpowiednim przygotowaniu do przeprowadzenia zaplanowanych badań.

HIPOTEZY BADAWCZE I CELE PRACY to krótki (1,5 str.) rozdział, w którym zostały postawione ww. hipotezy badawcze i sformułowane cztery cele badawcze, zrealizowanie których pozwoliło na zweryfikowanie hipotez i przygotowanie manuskryptów publikacji.

W jednostronicowym rozdziale 5. PLANY I ZADANIA BADAWCZE Doktorantka zamieściła przejrzysty diagram, przedstawiający plan badań wraz z zadaniami badawczymi na kolejnych poziomach eksperymentów.

Rozdział 6. WYNIKI PRACY, jest najobszerniejszą, pięćdziesięciostronicową częścią pracy i zawiera kopie ww. cyklu 3 powiązanych tematycznie publikacji, stanowiących zasadniczą część rozprawy.

Recenzent rozprawy doktorskiej nie ocenia tych publikacji, zrobili to już recenzenci powołani przez redakcje renomowanych czasopism, którzy uznali, że prace zasługują na upowszechnienie. Recenzent może tylko dodać, że w zupełności zgadza się z taką decyzją.

Na siedemnastu stronach rozdziału 7. DYSKUSJA Doktorantka interpretuje i porównuje wyniki badań i obserwacji przedstawione w ww. publikacjach z danymi uzyskanymi przez innych autorów. W podrozdziałach omawia następujące zagadnienia dotyczące:

- wpływu warunków kultury na rodzaje tkanki kalusowej wyprowadzonej z bielma kiwi
- kultur długoterminowych i ich potencjału do regeneracji
- ekspresji genów w kalusie i regenerantach pochodzenia bielmowego kiwi
- *protuberances* – nowych struktur w obrębie kalusa
- wybranych markerów molekularnych w oznaczaniu płci kalusa i regenerantów kiwi
- wybranych metod identyfikacji i rozróżniania poliploidów kiwi
- perspektyw dalszych badań.

Zdaniem recenzenta Doktorantka umiejętnie wykorzystuje dostępną literaturę, dyskusja jest kompletna i dobrze przeprowadzona.

Rozdział 8. WNIOSKI KOŃCOWE I PODSUMOWANIE jest składającą się z 3 punktów listą wniosków, odpowiednio sformułowanych w oparciu o wyniki przedstawione w ww. cyklu 3 publikacji.

Rozdział 9. FINANSOWANIE

Rozdział 10. LITERATURA zawiera wykaz 215 pozycji bibliograficznych. Cytowana literatura, zarówno w publikacjach, jak i w innych częściach rozprawy, jest odpowiednio dobrana, wystarczająca, opublikowana w renomowanych, recenzowanych czasopismach.

Rozdział 11. ZAŁĄCZNIKI zawiera kopie oświadczeń wszystkich współautorów publikacji.

Nie mam zastrzeżeń do jakości wyników przedstawionych w rozprawie oraz sposobu ich interpretacji i udokumentowania. Nieanglojęzyczne rozdziały rozprawy napisane są bardzo dobrą polszczyzną, sposób wypowiedzi jest klarowny i precyzyjny, stosowana terminologia na ogół nie budzi zastrzeżeń. Strona edytorska pracy stoi na bardzo wysokim poziomie - nie znalazłem błędów redakcyjnych, co świadczy o staranności Doktorantki w przygotowaniu dysertacji.

Do najważniejszych osiągnięć przedstawionych w recenzowanej rozprawie zaliczam:

- opisanie charakterystycznych cech morfologicznych, histochemicznych i ultrastrukturalnych t.zw. protuberances, szczególnych struktur bielmowego kalusa organogenego kiwi, które powstają przed właściwym procesem organogenezy oraz wykazanie, że dochodzi w nich do wyższej, w porównaniu z pozostałymi obszarami kalusa, ekspresji genów włączonych w metabolizm węglowodanów i biosyntezę metabolitów wtórnych (Publikacja 1 cyklu);
- ustalenie, że marker molekularny *SmY* pozwala na identyfikację płci męskiej już na etapie kultur tkankowych kalusa kiwi, co zapewnia miarodajne oznaczanie płci roślin zregenerowanych z danej linii tkanki kalusowej i co, być może, znajdzie zastosowanie w komercyjnej hodowli kiwi (Publikacja 2);
- wykazanie, że pomiary wielkości i zagęszczenia aparatów szparkowych liści nie są dostatecznie wiarygodne do rozpoznawania i rozróżniania nonaploidalnych roślin kiwi pochodzenia bielmowego od heksaploidalnych oraz że do tych celów powinna być wykorzystywana cytometria przepływową (Publikacja 3).

Podczas publicznej obrony rozprawy chciałbym uzyskać odpowiedzi Doktorantki na następujące pytania:

- czy zawsze „Bielmo cechuje się wyższym poziomem ploidalności w stosunku do zarodka” [str. 5 rozprawy] ?;
- czy naprawdę „Każda żywa komórka roślinna z zachowanym jądrem komórkowym jest w stanie zmodyfikować swój rozwój w warunkach kultur tkankowych...” [str. 7] ?;
- czy proponowana na stronie 82 definicja „protuberances” nie powinna być poprawiona?;
- czy drogą regeneracji roślin z tkanki bielmowej kiwi udało się już wyhodować kwitnące i owocujące rośliny?

W podsumowaniu chcę podkreślić, że Doktorantka zrealizowała założone cele pracy. Jej rozprawa dotyczy problematyki naukowej o dużym znaczeniu poznawczym, zawiera wartościowe wyniki właściwie zaprojektowanych, starannie wykonanych i bardzo dobrze udokumentowanych obserwacji naukowych. Sposób ich przedstawienia i omówienia

potwierdzają, z jednej strony, bardzo dobrą orientację Doktorantki w problematyce badawczej, w ramach której praca powstała, zaś z drugiej, Jej umiejętność prowadzenia pracy badawczej. Zamieszczone w dysertacji wyniki badań zostały już opublikowane w renomowanych periodykach naukowych, co również potwierdza ich wysoką wartość naukową.

Uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Iwony Chłosty pt. „Analizy histochemiczne, ultrastrukturalne i molekularne kultury tkankowej kalusa wyprowadzonego z bielma kiwi *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* A. Chev. (A. Chev.)” stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego i spełnia wymagania stawiane dysertacjom doktorskim, określone w artykule 13 „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595, z późniejszymi zmianami). Dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk, 9 lipca 2022 roku



prof. dr hab. Jerzy Bohdanowicz