



## WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH

ZAKŁAD BIOLOGII ROZWOJU ROŚLIN  
ul. Kanonia 6/8  
50-328 Wrocław

tel. +48 71 375 40 96 | +48 71 375 40 94  
fax +48 71 343 41 18

[www.uni.wroc.pl](http://www.uni.wroc.pl)

dr hab. Katarzyna Sokołowska  
Zakład Biologii Rozwoju Roślin  
Wydział Nauk Biologicznych  
Uniwersytet Wrocławski  
e-mail: [katarzyna.sokolowska@uwr.edu.pl](mailto:katarzyna.sokolowska@uwr.edu.pl)

Wrocław, 28.04.2022r.

### **Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej pt. „Rola plazmodesm w regulacji różnicowania komórek na przykładzie Arabidopsis”**

Mechanizmy regulujące poziom komunikacji międzykomórkowej przez plazmodesmy odgrywają istotną rolę w procesach wzrostu i różnicowania roślin, szczególnie gdy w sąsiadujących ze sobą komórkach lub grupach komórek realizowane są odmienne programy rozwojowe. W takiej sytuacji ograniczenie swobodnej wymiany czynników sygnałnych i regulatorowych poprzez zamykanie plazmodesm jest niezbędne do prawidłowego przebiegu danego programu rozwojowego. Poznanie mechanizmów, które umożliwiają precyzyjną regulację poziomu komunikacji międzykomórkowej, polegającą na jej czasowym ograniczeniu, a następnie ponownym wznowieniu, stanowi jedno z ciekawszych wyzwań współczesnej biologii roślin.

Praca doktorska Pani mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej przygotowana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Ewy Kurczyńskiej z Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach bardzo dobrze wpisuje się w nowoczesną tematykę badawczą związaną z regulacją poziomu komunikacji międzykomórkowej oraz jej rolą w procesach rozwojowych u roślin. Badania prowadzone w ramach recenzowanej rozprawy doktorskiej były finansowane z dotacji przyznanej na rozwój potencjału badawczego Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach oraz w ramach dotacji dla Młodych Naukowców Uniwersytetu Śląskiego.

Rozprawę doktorską Pani mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej tworzy zbiór sześciu połączonych tematycznie publikacji, które stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Prace te

dotyczą roli plazmodesm w regulacji procesów różnicowania komórek roślinnych w trakcie embriogenezy somatycznej u *Arabidopsis thaliana*, modelu badawczego, który od lat znajduje się w centrum zainteresowania Pani prof. dr hab. Ewy Kurczyńskiej i członków jej zespołu. Cykl prac, na którym opiera się rozprawa doktorska, obejmuje trzy artykuły eksperymentalne w j. angielskim, jeden artykuł przeglądowy w j. polskim oraz dwa rozdziały w anglojęzycznej monografii poświęconej metodyce badań nad transportem międzykomórkowym przez plazmodesmy. Trzy artykuły z przygotowanego cyklu znajdują się na tzw. liście filadelfijskiej, a sumaryczny współczynnik wpływu wszystkich prac wynosi 16,712. Zbiór publikacji tworzących rozprawę poprzedza zwięzłe, dwudziestostronicowe wprowadzenie (określone przez Autorkę jako autoreferat) przygotowane w j. polskim. Natomiast po cyklu artykułów zamieszczone zostały podsumowanie, wnioski, streszczenia w j. polskim i angielskim oraz oświadczenia Doktorantki i współautorów. Cała rozprawa doktorska liczy ponad 190 stron.

Autoreferat został podzielony na cztery rozdziały o układzie typowym dla prac eksperymentalnych. W pierwszym rozdziale wyjaśniono podstawowe zagadnienia i pojęcia dotyczące plazmodesm oraz roli komunikacji symplastowej, zwłaszcza w procesach embriogenezy zygotycznej i somatycznej. W kolejnych częściach Doktorantka przedstawiła podstawowe i szczegółowe cele swoich badań, scharakteryzowała materiał badawczy oraz krótko opisała różnorodne metody wykorzystywane podczas pracy eksperymentalnej. Najbardziej obszerną część autoreferatu stanowi rozdział zatytułowany „Wyniki i dyskusja”, w którym szczegółowo opisano główne osiągnięcia wszystkich sześciu prac wchodzących w skład cyklu. Autoreferat stanowi bardzo dobre wprowadzenie do lektury wszystkich sześciu publikacji, świetnie prezentuje szeroki zakres badań prowadzonych przez Doktorantkę. Podsumowane w autoreferacie wykorzystane techniki badawcze oraz układy eksperymentalne wskazują na wszechstronną analizę badanych procesów, dowodząc równocześnie godnej uznania skrupulatności i pracowitości Doktorantki.

Jako recenzent mam kilka drobnych zastrzeżeń dotyczących autoreferatu, które, co chciałabym wyraźnie podkreślić, nie umniejszają jego wartości. Zabrakło mi bardziej szczegółowej klasyfikacji plazmodesm (rozdzielenia nie tylko plazmodesm prostych i rozgałęzionych), informacji o nowo odkrytych elementach strukturalnych plazmodesm łączących błonę

komórkową z desmotubulą oraz częstszych odniesień do oryginalnych publikacji z kilku ostatnich lat – oczywiście takie prace są cytowane, ale w moim odczuciu w niewystarczającym stopniu. W tym miejscu warto wspomnieć o najnowszych artykułach wskazujących na rolę kalozy w transporcie auksyny (Sager i in., 2020 *Nature Communications*; Gao i in., 2020 *Current Biology*; Band 2021 *New Phytologists*), których zabrakło na początku autoreferatu lub w części poświęconej dyskusji uzyskanych wyników. Mam również kilka uwag od strony edytorskiej i stylistycznej. W tekście pojawiły się powtórzenia, błędy stylistyczne (np. „umożliwiło odpowiedź na pytanie” zamiast „umożliwiło uzyskanie odpowiedzi na pytanie”), interpunkcyjne czy fleksyjne, a także literówki (np. zamiast „fotochromy drobnocząsteczkowe” Autorka miała pewnie na myśli „fluorochromy drobnocząsteczkowe”). Nie znalazłam w polskojęzycznej części rozprawy doktorskiej rozwinięcia skrótu genu *BBM* (*BABY BOOM*) – pojawia się on dopiero w publikacjach, a w spisie literatury nie dodano nazwisk edytorów przy tytułach monografii. Warto również pamiętać, że w przypadku roślin prowadzimy ich uprawę a nie hodowlę. Nie jestem również przekonana do określenia Edwarda Tangla jako odkrywcy plazmodesm. Edward Tangl dostarczył kolejnych przykładów połączeń cytoplazmatycznych pomiędzy protoplastami endospermu w nasionach *Strychnos nux-vomica*, *Areca oleraceae* i *Phoenix dactylifera*, uzupełniając osiągnięcia Hartiga, von Mohla, Nägela czy Hansteina. Zatem Edwarda Tangla możemy uznać za najbardziej znanego reprezentanta grupy badaczy, którzy pod koniec wieku XIX byli przeświadczeni o konieczności komunikacji międzykomórkowej, ale nie za odkrywcę plazmodesm.

Podczas lektury fragmentu dotyczącego roli kalozy w trakcie procesu embriogenezy somatycznej w komórkach embriogennych i młodych zarodkach u cykorii, orzecha kokosowego i dębu korkowego zaskoczyło mnie stwierdzenie, że „występowanie kalozy, (która) może prowadzić do zerwania PD”. Przypuszczam, że Autorka miała na myśli dynamiczne zmiany w poziomie komunikacji międzykomórkowej, związane z odkładaniem kalozy a następnie jej hydrolizą w określonych etapach embriogenezy, prowadząc do blokowania („zrywania”) i ponownego nawiązywania komunikacji międzykomórkowej. Może jednak w literaturze istnieją

doniesienia fizycznego „zerwania plazmodesm” między komórkami w trakcie embriogenezy somatycznej? Będę wdzięczna za wyjaśnienie mojej wątpliwości.

Jak wspominałam wcześniej, rozprawa doktorska Pani mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej jest oparta na zbiorze sześciu artykułów: trzech artykułów eksperymentalnych opublikowanych w 2020 i 2021 r. w renomowanych zagranicznych czasopismach naukowych (*Journal of Experimental Botany* IF 6,99; *Frontiers in Plant Science* IF 5,753; *Functional Plant Biology* IF 3,101), jednego artykułu przeglądowego w j. polskim przygotowanego na zaproszenie do specjalnego numeru *Postępów Biochemii* w 2021 r. poświęconego zagadnieniom związanym z biologią rozwoju roślin oraz dwóch rozdziałów w anglojęzycznej monografii wieloautorskiej pt. „*Plasmodesmata: Methods and Protocols, second edition*”, opublikowanej w 2022 r. przez wydawnictwo Springer Nature pod redakcją Yoselin Benitez-Alfonso oraz Manfreda Heinleina. Warto podkreślić, że wspomniana monografia stanowi zbiór aż 31 protokołów opracowanych przez czołowe międzynarodowe grupy badawcze zajmujące się komunikacją międzykomórkową i plazmodesmami. Zaproszenie do przygotowania aż dwóch rozdziałów w tak renomowanej monografii stanowi najlepszy dowód międzynarodowego uznania i docenienia badań prowadzonych przez Panią Profesor i Doktorantkę. Wysoki poziom naukowy oraz wagę odkrycia roli izolacji symplastowej jako markera zmian kierunku różnicowania komórek podczas embriogenezy somatycznej potwierdza także duża liczba cytowań artykułu opublikowanego w 2020 r. w *J Exp Bot* (14 cytowań bez autocytacji wg Bazy Web of Science, dostęp 28.04.2022). Warto podkreślić, że publikacje wchodzące do cyklu prac Pani mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej są bogato ilustrowane, zawierają w sumie (nie licząc materiałów dodatkowych) ponad 30 tablic ze zdjęciami, ponad 10 tabel oraz 5 kolorowych schematów, które świetnie podsumowują uzyskane wyniki. Muszę jednak zaznaczyć, że do niektórych z nich wkradły się drobne błędy edytorskie. W pracy opublikowanej w *Journal of Experimental Botany* zdublowany został jeden akapit w dyskusji, a w artykule z *Frontiers in Plant Science* znalazłam rozbieżności pomiędzy opisem wyników w tekście a ich podsumowaniem w tablicy nr 2. Te drobne błędy oczywiście nie umniejszają wagi i znaczenia powyższych prac.

Warto podkreślić, że w pierwszych pięciu pracach wchodzących w skład rozprawy Pani mgr Kamila Godel-Jędrychowska jest pierwszym autorem, w czterech z nich także autorem

korrespondencyjnym. W publikacjach tych Doktorantka brała udział m.in. w opracowaniu koncepcji badań, przeprowadzała analizy i opracowywała wyniki, a w pracach, w których pełniła funkcję autora korespondencyjnego uczestniczyła dodatkowo we wszystkich etapach procesu publikacji manuskryptów. Zatem udział Pani mgr Kamili Godel-Jędrychowskiej w pierwszych pięciu pracach cyklu jest wiodący. W ostatnim artykule wchodzącym w skład rozprawy Doktorantka jest drugim z trzech autorów, a jej wkład w przygotowanie publikacji uważam za istotny. Podsumowując, Pani mgr Kamila Godel-Jędrychowska nie tylko spełnia wymogi stawiane Doktorantom przedstawiającym rozprawy doktorskie oparte o zbiór publikacji, ale znacząco je przewyższa.

Należy podkreślić nakład pracy włożony w przeprowadzenie eksperymentów, opracowanie wyników i przygotowanie wszystkich sześciu publikacji. W trakcie swoich badań Pani mgr Kamila Godel-Jędrychowska, stosując różnorodne fluorescencyjne znaczniki transportu symplastowego i wybrane linie transgeniczne Arabidopsis, zidentyfikowała odrębne domeny symplastowe pojawiające się podczas embriogenezy somatycznej, określiła również jak zmienia się stopień komunikacji międzykomórkowej w badanym procesie rozwojowym. Wskazała również na niezmiernie ciekawe zależności pomiędzy różnicowaniem komórek, poziomem auksyny i występowaniem kalozy. Warto zauważyć, że wyniki wskazujące na wagę izolacji symplastowej w rozwoju zarodków somatycznych, zostały przetestowane w eksperymentach z wykorzystaniem inhibitora syntezy kalozy. Dzięki temu Doktorantka jednoznacznie dowiodła, że kaloza jest niezbędnym czynnikiem warunkującym zmiany kierunku różnicowania komórek oraz prawidłowy przebieg embriogenezy somatycznej. W kolejnym etapie Pani mgr Kamila Godel-Jędrychowska porównała rozwój zarodków somatycznych i zygotycznych, zwracając szczególną uwagę na czasowe i przestrzenne różnice w powstawaniu domen symplastowych oraz w poziomie komunikacji międzykomórkowej w obu układach eksperymentalnych. Następnie dokonała szczegółowych analiz na poziomie ultrastrukturalnym, określając m.in. liczbę plazmodesm oraz ich typ (proste/rozgałęzione) w kluczowych etapach rozwoju zarodków somatycznych i pomiędzy komórkami należącymi do tej samej domeny symplastowej albo realizującymi odmienne, programy rozwojowe. Wyniki z analiz ultrastrukturalnych uzupełniają wcześniejsze ustalenia dotyczące izolacji symplastowej uzyskane z wykorzystaniem znaczników fluorescencyjnych,

kompleksowo opisując mechanizm regulujący zmiany kierunków różnicowania w trakcie embriogenezy somatycznej.

Analizy były prowadzone w szerokim zakresie, z wykorzystaniem różnorodnych, nowoczesnych metod. Doktorantka pracowała aż na trzech układach eksperymentalnych, w których dochodzi do powstania zarodków somatycznych. W badaniach używała zarówno siewek linii transgenicznej z nadekspresją genu *BABY BOOM* (pod konstytutywnym promotorem 35S), w których spontanicznie powstają zarodki somatyczne, jak również korzystała z niedojrzałych zarodków zygotycznych linii p35S:*BBM* oraz typu dzikiego *A. thaliana* ekotyp Col-0, które służyły jako eksplantaty do uzyskania zarodków somatycznych w trakcie kultury. Dodatkowo Doktorantka wykorzystwała kilkanaście linii transgenicznych *Arabidopsis* m.in. do lokalizacji miejsc ekspresji wybranych genów (np. *WOX2*) czy analizy intensywności transportu w zależności od wielkości powstałego białka. Należy zaznaczyć, że Doktorantka analizowała różne fazy rozwoju zarodków somatycznych. W swoich badaniach wykorzystywała mikroskopię świetlną, w tym fluorescencyjną i konfokalną, a także transmisyjną mikroskopię elektronową oraz nowoczesną technikę Array Tomography (AT), pozwalającą na tworzenie trójwymiarowych rekonstrukcji w oparciu o serię ultracienkich przekrojów. Chciałabym zaznaczyć, że uzyskanie tak rewelacyjnych modeli 3D komórek roślinnych, oprócz dostępu do nowoczesnego sprzętu, nie byłoby możliwe bez dopracowania do perfekcji przez Doktorantkę odpowiedniego protokołu przygotowania materiału roślinnego do analiz z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej.

Podsumowując, badania prowadzone przez Panią mgr Kamilę Godel-Jędrychowską, opublikowane w cyklu sześciu artykułów tworzących recenzowaną rozprawę doktorską, dostarczyły niewątpliwie nowych dla nauki i interesujących danych, które są niezwykle cenne dla poznania regulacji procesu embriogenezy somatycznej. Uzyskane wyniki świetnie ilustrują znaczenie plazmodesm w regulacji różnicowania komórek, co jest kluczowe dla zrozumienia wielu podstawowych procesów rozwojowych u roślin.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca spełnia warunki wymagane Ustawą z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595), z późniejszymi zmianami z dnia 18.03.2011 r. (Dz. U. Nr 84, poz.455), w związku z art. 179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz. U. poz. 1669) i wnioskuje

do Rady Naukowej Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie Pani magister Kamili Godel-Jędrychowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

*Kataryna Sołtowska*