

Prof. dr hab. inż. Marcin Rapacz
Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa
Wydział Rolniczo - Ekonomiczny
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Imię i nazwisko kandydata: Katarzyna Gajek

Tytuł rozprawy doktorskiej: Analiza funkcjonalna genów potencjalnie związanych z rozwojem włośników u jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.).

Promotor: Prof. dr hab. Iwona Szarejko

Podstawa wykonania recenzji

Podstawą wykonania recenzji jest pismo Dyrektora Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, Pana dr Mariusza Kanturskiego, prof. UŚ z dnia 28 czerwca 2024 roku z prośbą o wykonanie przedmiotowej recenzji skierowane na podstawie powołującej mnie na recenzenta Uchwały Rady Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach podjętej w dniu 28 czerwca 2024 roku.

Ocena merytoryczna pracy

Badania przeprowadzone w ramach ocenianej rozprawy miały na celu znalezienie nowych genów związanych z procesami rozwoju i wzrostu włośników i scharakteryzowanie ich funkcji u jęczmienia. Zakres przeprowadzonych badań był szeroki i obejmował:

- 1) identyfikację nowych alleli dla wytypowanych genów potencjalnie związanych z rozwojem włośników u jęczmienia, z wykorzystaniem strategii TILLING,
- 2) analizę kosegregacji zidentyfikowanych mutacji z fenotypem włośników,
- 3) identyfikację genu związanego z rozwojem włośników z wykorzystaniem techniki sekwencjonowania eksomu,
- 4) analizę mutantów allelicznych pod względem mutacji w genach kandydujących wybranych na podstawie sekwencjonowania eksomu,
- 5) analizę ekspresji zidentyfikowanego genu oraz innych genów potencjalnie związanych ze wzrostem szczytowym włośnika w korzeniu zidentyfikowanego mutantu, jego odmiany wyjściowej i mutantów allelicznych.

Tematyka ta jest oryginalna, a jej wartość naukową należy uznać za wysoką ze względu na podjętą próbę poznania, dotychczas słabo opisanego, genetycznego mechanizmu rozwoju włośników u rośliny jednoliściennej oraz na fakt wykorzystania przez doktorantkę w badaniach wyjątkowego materiału badawczego w postaci mutantów jęczmienia *rhp1.a*, *rhp1.b*, *rhp1.c*, *rhp1.d*; *hvcbp20.ab/rhp1.f* oraz *hvexpb5.i*, które wykształcają silnie skrócone włośniki, bez zmian w ich kształcie i morfologii. Mutant *hvexpb5.i* został wyselekcjonowany przez doktorantkę metodą TILLING z jęczmiennej populacji *HorTILLUS* wyprowadzonej w Katedrze Genetyki Uniwersytetu Śląskiego po traktowaniu mutagenami nasion odmiany 'Sebastian'. Następnie doktorantka przeprowadziła analizę kosegregacji na uzyskanej po krzyżowaniu *hvexpb5.i* z odmianą 'Sebastian' populacji F₂.

W pracy wykorzystano szereg narzędzi bioinformatycznych, metod biologii molekularnej, metod mikroskopowych oraz metod fenotypowania roślin, w tym nowoczesny system uprawy 'flood-and-drain'. Dobór metod i narzędzi oraz szczegółowe ich opisy umieszczone w rozprawie świadczą o dobrej ich znajomości zarówno stosowanych metod jak i potencjału ich wykorzystania. W pracy zastosowano też adekwatne metody statystyczne.

Doktorantka umiejętnie i w sposób budzący zainteresowanie czytelnika wprowadza w tematykę badawczą. Rozdziały wstęp i przegląd literatury liczą łącznie 34 strony i opisują zarówno funkcje oraz proces rozwoju włośników jak i strategię poszukiwania genów uczestniczących w kształtowaniu konkretnych fenotypów.

Istotnym mankamentem rozprawy jest brak sformułowanych wprost hipotez badawczych o charakterze ogólnym. W tekście rozprawy pojawiają się jednak hipotezy szczegółowe, a doktorantka w przejrzysty sposób prowadzi czytelnika przez kolejne etapy swojej pracy.

Wyniki pracy przedstawione zostały na 55 stronach, w tym w 14 tabelach i na 23 rycinach. Sposób przedstawienia i omówienia wyników jest prawidłowy i czytelny.

Za najciekawsze wyniki uznać należy:

- 1) Stwierdzenie, że cecha silnie skróconych włośników mutantu *hvexpb5.i/rhp1.e* kontrolowana jest przez mutację w *locus Rhp1*, którego sekwencja i biologiczna funkcja nie były dotąd znane.
- 2) Wykazanie, że gen *HORVU1Hr1G077230* kodujący syntazę celulozy C1 (*HvCSLC1*) biorącą udział w biosyntezę ksyloglukanu może być zaangażowany w proces wzrostu szczytowego włośników u jęczmienia.
- 3) Udowodnienie, że gen *HvCSLC1* nie ma wpływu na rozwój i wzrost korzeni zarodkowych i korzeni bocznych u jęczmienia, a działa specyficznym tylko we wzroście szczytowym włośnika.

Swoje wyniki doktorantka skonfrontowała z literaturą przedmiotu w rozdziale dyskusja. Obejmuje on 17 stron oraz jedną rycinę na której przedstawiono proponowany model cząsteczki ksyloglukanu obecnego we włośnikach *H. vulgare* podczas ich wzrostu szczytowego. O ile w przypadku reszty dyskusji nie można mieć zastrzeżeń co do poprawności interpretacji wyników to w przypadku

tej ryciny doktorantce nie udało się wyjaśnić przekonująco związku tego modelu z uzyskanymi w pracy wynikami. Koncepcja ta nie została też porównana z analogicznymi modelami dotyczącymi innych gatunków. Warto pamiętać, że wyniki doktorantki wskazują jedynie na istotną rolę genów *HvXXT1* (*HORVU4Hr1G054910*) i *HvMUR3* (*HORVU4Hr1G079030*) w biosyntezie ksyloglukanu podczas wzrostu szczytowego włósnika u jęczmienia. Proponowany schemat należy więc uznać za nadinterpretację, lub nie zostało to dość jasno wytłumaczone.

Doktoranka sformułowała w pracy 12 szczegółowych wniosków obejmujących pełny zakres przeprowadzonych badań. Wszystkie wnioski są poprawne merytorycznie oraz redakcyjne. Dość nieszczęśliwe jest sformułowanie z wniosku 4 („gen ... jest najlepszym kandydatem do pełnienia funkcji ...”). Sugeruje ono, że gen tej funkcji nie pełni, ale dobrze byłoby, gdyby pełnił ją w przyszłości. Za zbędne należy uznać pierwsze zdanie wniosku 11 (Strategia TILLING jest wydajną metodą uzyskiwania serii nowych alleli badanych genów), gdyż nie odnosi się ono do celów oraz wyników pracy. Podobnie wniosek 12 („Strategia sekwencjonowania całego eksomu stanowi najbardziej efektywne narzędzie do identyfikacji mutacji odpowiedzialnych za badany fenotyp mutantów *H. vulgare*”), choć poprawny, powinien zostać usunięty, jako że nie odnosi się on do postawionych celów pracy.

W pracy zacytowano łącznie 193 pozycje literatury. Bibliografia obejmuje wszystkie istotne pozycje literatury przedmiotu, w tym prace najnowsze, opublikowane w latach 2023 i 2024 co wskazuje na wysoki poziom wiedzy ogólnej kandydatki w dyscyplinie nauki biologiczne.

Ocena strony formalnej i redakcyjnej pracy

Rozprawa ma formę napisanej w języku polskim monografii naukowej. Liczy 195 stron, z czego 25 stanowią aneksy zawierające szczegółowe informacje dotyczące protokołów analitycznych oraz sekwencji starterów, genów, ich mRNA oraz kodowanych białek. Układ pracy jest poprawny i typowy dla rozpraw doktorskich. Szata graficzna rozprawy jest przejrzysta, na pochwałę zasługują tytuły rycin i tabel umożliwiające zrozumienie ich zawartości bez odwoływania się do tekstu.

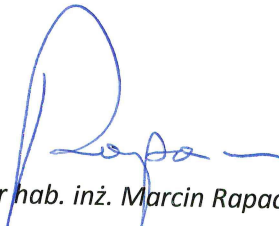
Praca napisana jest w większości poprawnym językiem, choć niektóre sformułowania są rażąco żargonowe. Np. „gen kandydacki” (poprawne są sformułowania gen kandydat lub gen kandydujący, słowo „kandydacki” jest neologizmem), ko-segregacja (poprawnie: kosegregacja), egzom (poprawnie: eksom, angielskie słowo exome pochodzi od słowa expression, a więc w języku polskim ekspresja). Ponadto zauważyć można nadużywanie stosowania przecinka, przy czym umieszczenie tak detalicznej uwagi w recenzji świadczy tylko o tym, że rozprawę przygotowano wyjątkowo starannie.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Katarzyny Gajek spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami). W rozprawie znaleźć można zarówno oryginalne rozwiązanie problemu naukowego jak i szeroki przegląd literatury obejmujący nie tylko opis badanych procesów, ale krytyczną analizę stosowanych w pracy metod oraz właściwą dyskusję własnych wyników na tle dotychczasowej wiedzy wykazujące ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w dyscyplinie nauki biologiczne. Praca wykazuje też umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej o czym świadczyć może krytyczne podejście do własnych wyników oraz przedstawienie szczegółowych protokołów instrumentalnych. Wobec powyższego wnioskuję do Rady Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie mgr Katarzyny Gajek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Nadmieniam, że w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 Przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2028 r., poz. 1669), który stanowi, że „przewody doktorskie (...) wszczęte i niezakończone przed dniem wejścia w życie ustawy (...) są przeprowadzane na zasadach dotychczasowych, z tym, że jeżeli nadanie stopnia doktora następuje po 30.04.2019, stopień nadaje się w dziedzinach i dyscyplinach określonych w przepisach wydanych na podstawie art. 5 ust. 3 tej ustawy”. Ponieważ okoliczność taka zachodzić będzie w przypadku podjęcia przez Radę stosownych uchwał dotyczących przyjęcia publicznej obrony oraz nadania stopnia doktora, to stopień ten winny być nadany w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie nauki biologiczne.

Kraków, 1 września 2024


Prof. dr hab. inż. Marcin Rapacz