

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Natalii Kuturiyevy-Nowak

pt. "Badania białek arabinogalaktanowych (AGP) jako istotnych składników ściany komórkowej w procesie dojrzewania owoców"

Opis ogólny

Rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Kuturiyevy-Nowak jest oparta na czterech publikacjach. We wszystkich wspomnianych artykułach Doktorantka jest pierwszym autorem oraz miała znaczący udział w ich przygotowaniu. Ponadto wszystkie artykuły zostały opublikowane w recenzowanych, międzynarodowych czasopismach (*Plant Methods*, *Scientia Horticulturae*, *Frontiers in Plant Science*, *Horticulture Research*) o bardzo dobrej renomie i wysokiej punktacji.

Rozprawa składa się z: Streszczeń w j. polskim i angielskim, Listy publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, Opisu indywidualnego wkładu do publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, Wykazu skrótów, Wprowadzenia, Hipotezy badawczej i celów rozprawy doktorskiej, Materiałów i metod badawczych, Omówienia wyników przedstawionych w publikacjach, Podsumowania i wniosków, Tekstów publikacji, Bibliografii, Oświadczeń, oraz Aneksu - życiorysu naukowego doktorantki.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki, projekt pt. „*Badania białek arabinogalaktanowych (AGP) jako istotnych składników ściany komórkowej podczas procesu dojrzewania owoców*” (*Sonata 16*, nr 2020/39/D/NZ9/00232), którego kierownikiem była dr hab. Agata Leszczuk, znana ekspertka od AGPs, oraz jednocześnie promotor Doktorantki. Ponadto rozprawa została wykonana przy współpracy międzynarodowej. Dzięki współpracy z Horticultural Genetics & Biotechnology Department w Mediterranean Agronomic Institute of Chania w Grecji, Doktorantka miała dostęp do linii transgeniczných roślin, które były kluczowe dla rozwiązania problemu badawczego.

Rozprawa liczy 138 strony. Została napisana klarownym, poprawnym językiem.

Poprawność redakcyjna rozprawy

Układ pracy jest typowy, rozprawa jest spójna i dobrze zaplanowana pod względem redakcyjnym.

Mam drobne zastrzeżenie co do rozmiaru wydruków publikacji, zbyt mały rozmiar czcionki utrudnia czytanie, także szczegóły na fotografiach są słabo widoczne.

Wartość naukowa i merytoryczna rozprawy

W części wstępnej rozprawy Doktorantka w sposób zwięzły nakreśliła obecny stan wiedzy na temat AGP oraz budowy ściany komórkowej. Ponadto streściła rys historyczny badań nad związkiem AGP z dojrzewaniem owoców. Jasno sformułowała problem badawczy.

Głównym celem przedstawionej rozprawy doktorskiej było zrozumienie roli AGP w kształtowaniu struktury ściany komórkowej, a w szczególności ich wpływu na czasowo-przestrzenną dystrybucję składników ściany komórkowej w trakcie procesu dojrzewania owoców. Jako model badawczy wybrano pomidor zwyczajny *Solanum lycopersicum* L. (rośliny kontrolne i rośliny transgeniczne). Doktorantka miała do wykonania cztery zadania badawcze oraz weryfikację hipotezy: *Dojrzewanie owoców pomidora jest ściśle związane ze zmianami dystrybucji i właściwościami molekularnymi AGP*. Chciałbym podkreślić, że wybrany temat rozprawy zasługuje na uwagę, zarówno pod względem nauk podstawowych jak i przyszłych zastosowań praktycznych. AGP są m.in. niezbędne w seksualnym rozmnażaniu roślin, ale też uczestniczą w większości procesów rozwojowych roślin oraz interakcjach komórek roślinnych ze środowiskiem zewnętrznym. Manipulacja AGP może mieć ogromne znaczenie zarówno w otrzymywaniu nowych odmian, które będą miały lepsze właściwości owoców jak i pomóc w kontroli ich dojrzewania i ich przechowywaniu. Rozprawa idealnie wpisuje się w nurt badawczy realizowany w Instytucie Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk. Wcześniej jednym z modelowych gatunków do badań zmian w ścianach komórkowych komórek owoców była jabłoń, Pani Natalia Kutyriv-Nowak wprowadza nowy gatunek do tego typu badań uzupełniając naszą wiedzę na temat roli AGP w kształtowaniu struktury ściany komórkowej. Jednocześnie czytając prace wchodzące w skład rozprawy widać wyraźnie, że Doktorantka świetnie opanowała różnorodne metody molekularne i histologiczne oraz z sukcesem potrafi zaplanować i wykonać eksperymenty.

Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki należą min.:

- ✓ Wykazanie, że niektóre AGP mogą być wykorzystane jako wskaźniki procesu dojrzewania owoców pomidora (np. AGP o masie molekularnej 30 kDa, AGP wykrywane przy użyciu przeciwciał JIM13, LM2, LM14).
- ✓ Stwierdzenie, że niektóre AGP mogą być specyficzne dla pewnych tkanek owoców w określonych stadiach rozwojowych.
- ✓ Stwierdzenie w owocach linii transgenicznym pomidora ze zmodyfikowaną ekspresją genu *SIP4H3* zaburzeń wzoru czasowo-przestrzennej dystrybucji AGP, oraz również zmian ilościowych AGP.
- ✓ Stwierdzenie, że zmiany podczas syntezy AGP wpływają na proces tworzenia stabilnej sieci porządkującej kontinuum ściana-błona komórkowa. Doktorantka pokazała, że zaburzenia

strukturalne ściany komórkowej (zmiany w organizacji pektyn), są skorelowane ze zmianami w wiązaniu jonów wapnia i wpływają na cały kompleks APAP1.

Na szczególną uwagę zasługuje stwierdzenie przez Doktorantkę, że zmodyfikowana i nieuporządkowana sieć macierzy zewnątrzkomórkowej ma wpływ na zmiany anatomiczne tkanek owoców pomidora.

Podsumowując uważam, że Doktorantka w pełni rozwiązała oryginalny problem badawczy, jaki przed sobą postawiła. Zweryfikowała hipotezę badawczą. Ponadto wykazała się dojrzałością naukową, umiejętnością pracy w zespole, oraz bardzo dobrze opanowała warsztat molekularny i mikroskopowy.

Podczas czytania rozprawy nasunęły mi się następujące pytania i sugestie:

Doktorantka pisze (strony 21-22): *„Wykazano, że obecność epitopów AGP jest ograniczona głównie do błony komórkowej, z ich wyraźną akumulacją wzdłuż granicy ze ścianą komórkową i przestrzeni pomiędzy ścianą a błoną komórkową, w tzw. macierzy zewnątrzkomórkowej.”* W literaturze terminem macierz zewnątrzkomórkowa często jest określana ściana komórkowa.

Str. 35 Doktorantka używa sformułowania „oderwane przedziały ściany komórkowej”, proszę o wyjaśnienie o jakie struktury chodzi.

W wielu miejscach w rozprawie Doktorantka wspomina o obecności epitopów w „cytoplazmie”. Czy mogłaby sprecyzować co rozumie jako „cytoplazmę”? Czy rzeczywiście taka terminologia jest prawidłowa? Ponieważ Doktorantka używała TEM i nanocząstek złota, powinna być bardziej precyzyjna i dokładnie określić w jakich organellach lub przedziałach komórkowych były obecne epitopy (proszę sprawdzić np. Samaj J., Samajova O., Baluska E., Lichtscheidl I., Knox J.P., Volkmann D. Immunolocalization of LM2 arabinogalactan protein epitope associated with endomembranes of plant cells. Protoplasma. 2000; 212:186-196. doi: 10.1007/BF01282919).

Czy utrwalacz składający się z mieszaniny 2% roztworu paraformaldehydu i 2,5% roztworu aldehydu glutarowego w PBS nie jest troszkę za „mocny” pod względem wysokiego stężenia aldehydu glutarowego i czy to może się przekładać na mniejszą immunoreaktywność i zafałszowany obraz występowania epitopów?

Doktorantka wspomina o określaniu „stopnia degradacji” ściany komórkowej na podstawie dystrybucji nanocząstek złota. Jednak obecność epitopów w organellach może być związana nie tylko dezorganizacją ściany komórkowej ale też z syntezą poszczególnych składników ściany.

Te drobne uwagi i sugestie nie mają wpływu na moją wysoką ocenę merytoryczną dysertacji.

Podsumowując stwierdzam, że dysertacja doktorska Pani mgr Natalii Kutyrivoy-Nowak spełnia warunki stawiane przed rozprawami doktorskimi zgodnie z wymaganiami określonymi w art. 187

ust. 1-2 i art. 190 ust. 3 Ustawy z dn. 20.07.2018 r. Prawo o Szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024 poz. 1571) i wnioskuję do szanownej Rady o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie ze względu na wysoki merytoryczny poziom przedstawionej dysertacji wnioskuję do szanownej Rady o nagrodzenie Pani mgr Natalii Kutyrivoy-Nowak.