

dr hab. Waclaw Tworzydło, prof. UJ
Zakład Biologii Rozwoju i Morfologii Bezkręgowców
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

O C E N A

rozprawy doktorskiej Pani mgr Lidii Sonakowskiej-Czajki

pt. „Struktura i ultrastruktura nabłonka jelita środkowego dorosłych i larwalnych osobników słodkowodnej krewetki *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca) z uwzględnieniem procesów regeneracji i degeneracji”

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Biologii Rozwoju

i Morfologii Bezkręgowców

1. Informacje ogólne o pracy

Słodkowodna krewetka karłowata *Neocaridina davidi* stała się w ostatnich latach dość popularnym zwierzęciem modelowym, wykorzystywanym w wielu laboratoriach, głównie z powodu łatwości hodowli i pozyskiwania materiału badawczego. Zwierzę to jest również chętnie hodowane przez akwarystów, przede wszystkim ze względu na różnorodność kolorystyczną poszczególnych odmian. Warto podkreślić, że do tej pory pozycja systematyczna kolorowych form tego skorupiaka nie jest ostatecznie rozstrzygnięta i ciągle trwa dyskusja nad przynależnością tych zwierząt do *Neocaridina davidi* (Bouvier, 1904), *Neocaridina heteropoda* (Liang, 2002) lub *Neocaridina denticulata sinensis* (Kemp, 1913). Gatunek ten oryginalnie występuje w rzekach Tajwanu, Chin oraz północnego Wietnamu, jednak w 2018 roku stwierdzono jego obecność, jako gatunku inwazyjnego w Odrze. Jak wykazały dokładniejsze analizy, populacja utrzymuje się w tamtej lokalizacji co najmniej od 2003 roku i została zapoczątkowana najprawdopodobniej przez wpuszczenie pojedynczych osobników do Odry przez posiadacza akwarium. Z tego względu gatunek ten ma również znaczenie ekologiczne.

Zespół Promotorki, Pani prof. Magdaleny Rost-Roszkowskiej od kilku lat z sukcesami zajmuje się analizą ultrastruktury układu pokarmowego bezkręgowców, w tym skorupiaków. Oceniana rozprawa doktorska jest kontynuacją tych badań.

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel. +48 12 664 5090

+48 12 664 5981

fax +48 12 664 5101

w.tworzydlo@uj.edu.pl

Doktorantka postanowiła szczegółowo przeanalizować ultrastrukturę komórek budujących jelito środkowe oraz gruczoł wątrobowo-trzustkowy u osobników dorosłych oraz w stadiach larwalnych *Neocaridina davidi*, ze szczególnym uwzględnieniem procesów degeneracji i regeneracji oraz związanych z nimi różnymi typami śmierci komórki. W świetle wszystkich powyższych informacji, wybór tematyki pracy oraz materiału do badań uważam za trafny.

Trzeba również podkreślić, że fragmenty części doświadczałnej pracy doktorskiej z wykorzystaniem innowacyjnej metody trójwymiarowego obrazowania z wykorzystaniem mikrotomografii komputerowej zrealizowano w oparciu o środki finansowe pochodzące z projektu badawczego PRELUDIUM finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (UMO- 2015/19/N/NZ4/00643), w którym Pani Lidia Sonakowska-Czajka była kierownikiem oraz z międzynarodowego grantu Syntesys.

2. Poprawność redakcyjna rozprawy

Oceniana rozprawa jest zbiorem trzech prac oryginalnych opublikowanych w latach 2015, 2016 i 2020 w bardzo dobrych czasopiśmie z listy JCR. Dwie prace zostały opublikowane w czasopiśmie *PLOS One* (IF = 2.740, 100 punktów MNiSW), natomiast 1 praca w *Journal of Morphology* (IF = 1,563, 100 punktów MNiSW). Wszystkie prace są wieloautorskie. W pierwszej pracy jest siedmiu autorów, w drugiej sześciu, a w trzeciej czterech. We wszystkich pracach Pani mgr Lidia Sonakowska-Czajka jest pierwszą autorką, a z oświadczeń współautorów dołączonych do rozprawy jasno i jednoznacznie wynika, że Jej rola w powstaniu powyższych publikacji była wiodąca i polegała m.in. na zaplanowaniu i przeprowadzeniu doświadczeń, przygotowaniu materiału do analiz mikroskopowych, wykonaniu dokumentacji fotograficznej, wykonaniu wizualizacji obrazów mikrotomografii komputerowej, analizie wyników, a także opracowaniu koncepcji manuskryptów i ich ostatecznym przygotowaniu.

Do publikacji wchodzących w skład rozprawy dołączony jest Autoreferat zawierający następujące części: (1) Wprowadzenie, (2) Cele pracy, (3) Materiał i Metody, (4) Wyniki i Dyskusja, (5) Wnioski, (6) Literatura oraz streszczenie i napisany po angielsku *abstract*. Układ tej części pracy, podział poszczególne części i oraz ich wzajemne proporcje są według mnie poprawne i odpowiadają standardom pracy naukowej. W tym miejscu pragnę zauważyć błędną numerację poszczególnych

rozdziałów, która jest inna niż w spisie treści i wynika z tego, że dwa pierwsze rozdziały Autoreferatu są ponumerowane jako 1. W tekście Autoreferatu gdzieś pojawiają się niezręczności językowe (np. na str. 21 Autorka pisze, że „komórki (...) występują na różnych poziomach aktywności”. Według mnie lepiej napisać, że komórki wykazują różną aktywność), skróty myślowe oraz literówki (np. wotrbotrzystka zamiast wątrobotrzustka na stronie 7 czy *Neocaridna* zamiast *Neocaridina* na str. 21). Wspominam o tym z obowiązku recenzenta, zaznaczając równocześnie, że uchybienia tego rodzaju są nieliczne i w żaden sposób nie wpływają na ocenę recenzowanej rozprawy.

Trudno jest oceniać poprawność redakcyjną prac, które wchodzą w skład rozprawy, gdyż zostały one przygotowane według surowych standardów poszczególnych redakcji i ocenione i/lub poprawione przez redaktorów i recenzentów na kolejnych etapach procesu edytorskiego. Warto jednak podkreślić, że ostateczny rezultat, czyli ostateczna wersja wszystkich trzech publikacji robi bardzo dobre wrażenie. Na wyjątkowe wyróżnienie zasługuje szata graficzna we wszystkich artykułach. Dokumentacja mikrofotograficzna, a szczególnie zdjęcia z mikroskopu elektronowego oraz trójwymiarowe rekonstrukcje powstałe w wyniku analiz z wykorzystaniem mikrotomografii są bardzo dobrej jakości, a ich interpretacja nie budzi najmniejszych zastrzeżeń. Moja jedyna uwaga do opublikowanych prac to niestosowanie *kursywy* przy pisaniu nazwy gatunku, zarówno w tytułach wszystkich trzech prac, jak i w całych tekstach publikacji oraz pojawiające się błędy w dzieleniu słów. Myślę, że uchybienia te można było wyeliminować podczas korekty edytorskiej.

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest szczegółowym i wyczerpującym opracowaniem dotyczącym ultrastruktury, fizjologii oraz śmierci komórkowej komórek jelita środkowego oraz gruczołu wątrobo-trzustkowego krewetki *Neocaridina davidi* w różnych stadiach rozwoju. Na stronie 5 dołączonego Autoreferatu, Doktorantka dokładnie sprecyzowała cele swojej pracy doktorskiej w postaci 9 szczegółowych zadań badawczych. Warto w tym miejscu dodać, że wszystkie cele (zadania badawcze) zostały zrealizowane.

W pierwszej pracy (Sonakowska i wsp, 2015) opublikowanej w *PLOS One* pt. „Structure and ultrastructure of endodermal region of the alimentary tract in the

freshwater shrimp Neocaridina heteropoda (Crustacea, Malacostraca)” opisano szczegółowo budowę endodermalnego rejonu przewodu pokarmowego badanego gatunku przy użyciu technik mikrotomografii komputerowej oraz rozmaitych technik mikroskopowych. Wykazano, że jelito środkowe zbudowane jest z dwóch typów komórek (komórek D i E). Natomiast w obrębie gruczołu wątrobowo-trzustkowego opisano 3 typy komórek (komórki F, B i E). Autorzy szczegółowo opisali ultrastrukturę wszystkich wymienionych wyżej typów komórek w kontekście pełnionych przez nie funkcji. Szczególną uwagę poświęcono komórkom E, które odpowiadają za regenerację.

W kolejnej pracy (Sonakowska i wsp., 2016) opublikowanej również w *PLOS One* pt. „*Cell death in the epithelia of the intestine and hepatopancreas in Neocaridina heteropoda (Crustacea, Malacostraca)*” przy użyciu technik mikroskopii świetlnej i elektronowej oraz analiz histochemicznych (metoda TUNEL, barwienie Lyso Tracker Red) szczegółowo przeanalizowano proces śmierci komórkowej w komórkach jelita i wątrobotrzustki u badanego gatunku krewetki. Autorzy wykazali, że na terenie nabłonka jelita środkowego zachodzi głównie autofagia. Pozostałe typy śmierci komórkowej, tj. apoptoza i nekroza obserwowane były zdecydowanie rzadziej. W pracy tej przedstawiono również wyniki dotyczące aktywności mitochondriów w komórkach jelita środkowego.

W ostatniej pracy (Sonakowska-Czajka i wsp., 2020) opublikowanej w *Journal of Morphology* zatytułowanej „*Postembryonic development and differentiation of the midgut in the freshwater shrimp Neocaridina davidi (Crustacea, Malacostraca)*” przedstawiono analizy różnicowania i rozwoju jelita środkowego oraz gruczołu wątrobowo-trzustkowego u stadiów larwalnych (zoea I i zoea III) badanego gatunku. Wykazano, że w pierwszym stadium larwalnym układ pokarmowy nie jest w pełni wykształcony. Cechy ultrastrukturalne komórek jelita u osobników z trzeciego stadium larwalnego wskazują, że w tym stadium jelito jest już ostatecznie rozwinięte i funkcjonalne. U osobników w tym stadium rozwojowym, w obrębie komórek jelita Autorzy wykazali występowanie wszystkich trzech typów śmierci komórkowej, podobnie, jak u form dorosłych, co dodatkowo potwierdza, że układ pokarmowy w trzecim stadium larwalnym jest funkcjonalny i w pełni rozwinięty.

W rozprawie doktorskiej Pani mgr Lidii Sonakowskiej-Czajki nie znalazłem żadnych nieścisłości czy błędów merytorycznych, co nie powinno dziwić, gdyż poszczególne prace stanowiące rozprawę zostały opublikowane w wiodących czasopismach

naukowych o wysokich współczynnikach naukometrycznych, a co za tym idzie zostały już poddane surowej ocenie przez recenzentów w rygorystycznych, często wieloetapowych procesach recenzji wydawniczych.

4. Wartość naukowa pracy

Rozprawa doktorska powinna być osiągnięciem naukowym. W pracy Pani mgr Lidii Sonakowskiej-Czajki wyników, które zasługują na miano osiągnięcia naukowego jest co najmniej kilka. Wśród najważniejszych warto odnotować następujące:

1. W pracy przedstawiono pierwszy tak obszerny opis zmian w budowie jelita śródowego oraz wątrobotrzustki skorupiaków w różnych stadiach rozwoju z wykorzystaniem nowoczesnych technik obrazowania.
2. Opisano ultrastrukturę wszystkich typów komórek budujących endodermalną część układu pokarmowego krewetki *Neocaridina davidi*.
3. Opisano procesy degeneracji i regeneracji w obrębie jelita oraz towarzyszące tym procesom różne typy śmierci komórkowej.

Podsumowując tę część recenzji mogę stwierdzić, że przedstawiona do oceny praca jest oryginalnym rozwiązaniem problemu badawczego. Bardzo dobrze napisany Autoreferat, będący uzupełnieniem i podsumowaniem opublikowanych publikacji wraz z bogatym piśmiennictwem świadczy o szerokiej wiedzy Pani Lidii Sonakowskiej-Czajki zakresu histologii, biologii komórki i morfologii funkcjonalnej bezkręgowców. Z pewnością recenzowana praca wnosi nowe interesujące dane do naszej wiedzy o funkcjonowaniu i rozwoju układu pokarmowego bezkręgowców oraz morfologicznych aspektach programowanej śmierci komórki.

5. Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę wszystkie powyższe dane oraz zgodnie z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 Przepisy wprowadzające Ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018, poz. 1669) stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Lidii Sonakowskiej-Czajki spełnia wszystkie wymogi stawiane pracom doktorskim w myśl artykułu 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z

późniejszymi zmianami; tekst jednolity Dz. U. z 2017 roku, poz. 1789) i wnoszę do Rady Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie Pani mgr Lidii Sonakowskiej-Czajki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie, biorąc pod uwagę wartość merytoryczną pracy, szeroko zakrojoną problematykę, uzyskanie finansowania na badania w ramach otwartego konkursu Narodowego Centrum Nauki oraz opublikowanie prac wchodzących w skład rozprawy w wiodących periodykach naukowych o wysokim IF i punktacji ministerialnej z pełnym przekonaniem wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

Kraków, 4 stycznia 2021

N. Trzopko