



Katowice, 13.04.2022

Dr hab. Alexander Betekhtin, prof. UŚ

Zespół Cytogenetyki i Biologii Molekularnej Roślin

Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska

Wydział Nauk Przyrodniczych

Uniwersytet Śląski w Katowicach

Jagiellońska 28, 40-032 Katowice

Tel. stacjonarny: +48 32 2009 484

Tel. komórkowy: +48 799 10 99 74

<https://buckwheatresearch.us.edu.pl>

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr Marty Hornyák

Rozwojowe i fizjologiczne mechanizmy aborcji kwiatów kształtujące plon nasion gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench.)

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Marty Hornyák została napisana pod kierunkiem prof. dr hab. Agnieszki Płazek oraz dr. inż. Przemysława Kopcia na Uniwersytecie Rolniczym im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, w Katedrze Fizjologii Hodowli Roślin i Nasiennictwa. Badania przeprowadzono w ramach projektu OPUS 13 kierowanego przez prof. dr hab. Agnieszkę Płazek finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki. W projekcie tym mgr Marta Hornyák była zatrudniona jako doktorant stypendysta.

Praca doktorska mgr Hornyák jest związana z niezwykle ważnym gatunkiem uprawnym, jakim jest gryka. Gryka zawiera różne związki fenolowe, między innymi rutynę, kwercetynę i C-glikozyloflawony, a także witaminy, które mają pozytywne właściwości terapeutyczne i dietetyczne. Do chwili obecnej opisano 23 gatunki gryki. Większość z nich to gatunki dzikie, a dwa najczęściej uprawiane to obcopolna *Fagopyrum esculentum* (gryka zwyczajna) i



samopylna *Fagopyrum tataricum* (gryka tatarka). Popularność hodowli tych dwóch gatunków w ostatnich latach niezwykle wzrosła.

Rozprawa doktorska mgr Marty Hornyák jest oparta na pięciu spójnych tematycznie publikacjach, które ukazały się w latach 2019-2021 (wg chronologii zamieszczenia ich w rozprawie):

1. Płażek A., Słomka A., Kopeć P., Dziurka M., **Hornyák M.**, Sychta K., Pastuszek J., Dubert A.F., Effects of high temperature on embryological development and hormone profile in flowers and leaves of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). Int J Mol Sci. 2019 Apr 5;20(7):1705. doi: 10.3390/ijms20071705. PMID: 30959807; PMCID: PMC6480298. **IF 2019 = 4,556.**

2. **Hornyák M.**, Płażek A., Kopeć P., Dziurka M., Pastuszek J., Szczerba A., Hura T. (2020). Photosynthetic activity of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) exposed to thermal stress. Photosynthetica, 58(1), 45-53. doi: 10.32615/ps.2019.140. **IF 2020 = 2,562.**

3. Płażek A., Hura K., Hura T., Słomka A., **Hornyák M.**, Sychta K., Synthesis of heat-shock proteins HSP-70 and HSP-90 in flowers of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) under thermal stress. Crop and Pasture Science. 2020 Jul 16;71(8):760-7. **IF 2020 = 1,570.**

4. **Hornyák M.**, Słomka A., Sychta K., Dziurka M., Kopeć P., Pastuszek J., Szczerba A., Płażek A., Reducing flower competition for assimilates by half results in higher yield of *Fagopyrum esculentum*. Int J Mol Sci. 2020 Nov 25;21(23):8953. doi: 10.3390/ijms21238953. PMID: 33255746; PMCID: PMC7728371. **IF 2020 = 5,924.**

5. Kopeć P., **Hornyák M.**, Pastuszek J., Szczerba A., Rapacz M., Waga J., Płażek A., Changes in the flower and leaf proteome of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) under high temperature. Int J Mol Sci. 2021 Mar 6;22(5):2678. doi: 10.3390/ijms22052678. PMID: 33800930; PMCID: PMC7961373. **IF 2021 = 5,924.**

Należy zaznaczyć, że publikacje wchodzące w skład rozprawy mgr Hornyák podlegały już procesowi wnikliwej merytorycznej recenzji przez niezależnych recenzentów będących ekspertami w tematyce podjętej w pracy. Docenili oni wartość prezentowanych wyników. W związku z powyższym w mojej recenzji koncentruję się na ogólnej ocenie badań przeprowadzonych przez Doktorantkę oraz formalnej ocenie rozprawy doktorskiej.

Trzy prace wchodzące w skład rozprawy zostały opublikowane na łamach bardzo szybko rozwijającego się czasopisma „International Journal of Molecular Sciences”, posiadającego wg Clarivate współczynnik wpływu z roku opublikowania pracy **IF 2019 = 4,556** oraz **IF 2020 = 5,924** i liczbę punktów **MEiN** obecnie równą **140**. Kolejne prace zostały wydane w czasopismach „Photosynthetica” (**IF 2020 = 2,562**, punkty **MEiN = 70**) oraz w „Crop and Pasture Science” (**IF 2020 = 1,570**, **MEiN = 70**). Suma punktów wg **MEiN** za wyżej wymienione publikacje wynosi **560**, a sumaryczny współczynnik wpływu – **20,536**. W dwóch pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. W pracy wskazanej pod numerem 2 Doktorantka była również autorem korespondencyjnym. Wszystkie przedstawione publikacje mają charakter prac eksperymentalnych. Dorobek punktacyjny oraz wysoki współczynnik wpływu świadczą o **bardzo dobrym** warsztacie naukowym Doktorantki. Wkład pani mgr Hornyák w przygotowanie publikacji składających się na rozprawę doktorską został **bardzo szczegółowo** określony w oświadczeniach współautorów, które zostały ujęte w rozprawie. Uważam ten wkład za istotny, biorąc pod uwagę jej pozycję wśród autorów. Warto podkreślić, że według bazy Scopus Doktorantka już posiada h-index, który wynosi 3.

Rozprawa doktorska mgr Hornyák jest podzielona na 12 części (jedna z nich zawiera oświadczenia współautorów artykułów): *wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, streszczenie, summary, wstęp, hipotezy badawcze i cel prowadzonych badań, materiał i metody, najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań, podsumowanie i wyniki, spis literatury, publikacje stanowiące pracę doktorską, oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz dorobek naukowy.*

Wstęp został napisany w sposób bardzo przejrzysty, przystępnym i klarownym językiem. Ma prawidłową strukturę, jego zawartość merytoryczna została dobrze przemyślana. Doktorantka opisuje grykę oraz ocenia ważność tego gatunku. Następnie charakteryzuje grykę



ze strony biologicznej, omawia biologię kwitnienia tego gatunku, jego wymagania klimatyczno-glebowe, agrotechnikę, znaczenie gospodarcze oraz właściwości odżywcze i zdrowotne. Wstęp zakończony jest przedstawieniem problematyki badawczej – w tej części Doktorantka prezentuje wyniki badań przeprowadzonych w ramach ostatniego projektu finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi (2014-2016). W tym projekcie wykazano, że liczba kwiatów w przypadku gryki koreluje ujemnie z liczbą dojrzałych nasion. Wyniki tego projektu pozwoliły na rozwinięcie problematyki badawczej związanej z plonem gryki. Uważam, że we wstępie zabrakło informacji na temat molekularnego podłoża heterostylis u *F. esculentum* oraz opisanie przyczyn braku tego zjawiska w przypadku *F. tataricum*. O tych gatunkach Doktorantka pobieżnie wspomniała we wstępie pracy. Proszę o omówienie tego wątku w trakcie publicznej obrony doktoratu.

W kolejnej części rozprawy Doktorantka, na podstawie wiedzy na temat czynników determinujących plonowanie gryki zwyczajnej oraz badań własnych, przedstawiła dwie hipotezy badawcze. Następnie zdefiniowała cel pracy doktorskiej, wskazanie głównej przyczyny wadliwego rozwoju woreczków zalążkowych oraz silnej aborcji kwiatów i niedojrzałych nasion, co ma bezpośredni wpływ na niskie plonowanie gryki zwyczajnej. Warto podkreślić, że cel pracy został trafnie określony i bardzo dobrze sformułowany.

Następny rozdział rozprawy doktorskiej mgr Hornyák opisuje materiały i metody badawcze. Został on napisany syntetycznie, ale zawiera wszystkie informacje na temat metod zastosowanych w doświadczeniach. W dalszej części rozprawy Doktorantka omówiła najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań.

Za najważniejsze osiągnięcie badawcze Doktorantki uważam wskazanie czynników, które mają bezpośredni wpływ na niskie plonowanie gryki. Zostało pokazane, że punktem krytycznym dla plonu nasion gryki jest moment kwitnienia i zapłodnienia, a nadprodukcja kwiatów oraz tworzenie zarodków jest procesem wyczerpującym zapasy substancji zapasowych. Doktorantka wykazała, że stres troficzny jest główną przyczyną niskiego plonowania gryki. Nie mam wątpliwości, że osiągnięcia mgr Hornyák będą mieć wpływ na skuteczne modulowanie wydajnością i stabilnością plonów w przyszłych programach hodowlanych.

Doktorantka w swoich badaniach zastosowała wiele technik, takich jak: ocena wybranych parametrów kinetyki fluorescencji chlorofilu, badania embriologiczne, oznaczenie białek HSP, badanie całkowitego proteomu, badania profilu hormonalnego, ocena parametrów wymiany gazowej, ocena przepuszczalności membran, ocena całkowitej zawartości węglowodanów oraz kultury *in vitro*. Wszystko to wskazuje na **doskonale** rozwinięty warsztat metodyczny Doktorantki.

Pod względem merytorycznym oceniam pracę wysoko. Założenia projektu doktorskiego są dobrze przemyślane, zostały także w pełni i szczegółowo zrealizowane. Wybór tematyki badawczej uważam za słuszny – podjęty temat jest niezwykle ważny, przyszłościowy i aplikacyjny.

Warto podkreślić, że dorobek naukowy Doktorantki nie ogranicza się do wskazanych publikacji będących podstawą rozprawy. Dodatkowy dorobek mgr Hornyák liczy aż 8 prac naukowych. Doktorantka przedstawiła na końcu rozprawy także wykaz doniesień konferencyjnych i w jednym przypadku wskazała, że była to prezentacja ustna, za którą dostała nagrodę. Nie znalazłem informacji, jaki był charakter pozostałych. **Nie zmniejsza to jednak w żadnym stopniu wartości pracy.**

Na koniec kieruję do Doktorantki kilka pytań dotyczących rozprawy. Proszę o odpowiedź na nie w trakcie publicznej części obrony doktorskiej.

1. Czy w literaturze przedmiotu znajduje się informacja na temat udomowienia gatunków *F. esculentum* oraz *F. tataricum*? Czy procesy udomowienia gryki wiążą się z procesami zmiany w zawartości wtórnych metabolitów w poszczególnych częściach gryki? Proszę w odpowiedzi uwzględnić czynniki molekularne.

2. Z czym związany jest brak hodowli *F. tataricum* w Polsce? Gatunek ten jest samopylny, zawiera więcej związków prozdrowotnych i z dużym sukcesem uprawiany jest na przykład w Chinach.



3. W swoich badaniach do analizy proteomu Doktorantka zastosowała rozdział białek z wykorzystaniem elektroforezy dwuwymiarowej. Podejście to cechuje się wieloma wadami, między innymi: czasochłonnością, ograniczonym zastosowaniem w przypadku analizy białek hydrofobowych i niską czułością, która przejawia się niską liczbę wykrywanych białek. Jaka alternatywną metodę analizy białek, która charakteryzowałaby się większą czułością, może zaproponować Doktorantka?

4. Związek pomiędzy poziomem ekspresji genu, a ilością białka jest złożony i podlega regulacji na różnych poziomach, co sprawia, że analiza proteomiczna dostarcza lepszego obrazu rzeczywistych zmian w obecności danego białka. Niemniej, analiza poziomu ekspresji genów pozwala na lepsze uchwycenie dynamiki zmian i potwierdzenie wyników analizy proteomicznej. W związku z tym proszę o wyjaśnienie, dlaczego w publikacji nie przeprowadzono analizy ekspresji genów, w szczególności dla białek, których, jak wykazała Doktorantka w piątej publikacji, obecność znacząco się różniła.

5. Czy istnieje różnica w stosunku liczby kwiatów oraz aborcji woreczków zalążkowych pomiędzy kwiatami Pin i Thrum?





Wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca mgr Marty Hornyák pt. „Rozwojowe i fizjologiczne mechanizmy aboreji kwiatów kształtujące plon nasion gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench.)” spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim, w tym art. 179 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, które stanowi, że przewody doktorskie, (...), wszczęte i niezakończone przed dniem wejścia w życie ustawy, o której mowa w art. 1, są przeprowadzane na zasadach dotychczasowych, z tym że jeżeli nadanie stopnia doktora, (...), następuje po dniu 30 kwietnia 2019 r. stopień (...) nadaje się w dziedzinach i dyscyplinach określonych w przepisach wydanych na podstawie art. 5 ust. 3 tej ustawy. **W związku z tym wnioskuję do Rady Dyscypliny Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie mgr Marty Hornyák do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Dr hab. Alexander Betekhtin, prof. UŚ

Alexander Betekhtin

