

Recenzja rozprawy doktorskiej
Wydziału Biologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego

Imię i nazwisko kandydata: Agnieszka Domka

Tytuł rozprawy doktorskiej: The characterization of the plant – endophytic fungi interaction. New insights from the *Arabidopsis* – *Mucor* sp. model

Promotor: Prof. dr hab. Katarzyna Turnau

Promotor pomocniczy: dr Piotr Rozpądek

Recenzent: dr hab. inż. Ewa Niewiadomska

1. Wartość naukowa rozprawy

a. Oryginalność badań

Rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Domki dotyczy mało poznanej relacji symbiotycznej pomiędzy rośliną i grzybem endofitycznym. Niniejsza praca dostarcza nowych, cennych informacji na temat mechanizmu endosymbiozy i dokumentuje jej istotną rolę w bioremediacji gleb skażonych toksycznymi metalami. Praca ta ma zatem charakter nowatorski, a wręcz pionierski. Do najcenniejszych osiągnięć rozprawy zaliczam:

Dokonanie szczegółowej charakterystyki układu symbiotycznego roślina-endofit pod względem składu gatunkowego/rodzajowego grzybów w warunkach skażenia toksycznymi metalami i zdeponowanie uzyskanych sekwencji grzybowych w bazie NCBI.

Udokumentowanie korzystnego wpływu endofita na biomasę roślin na glebie skażonej toksycznymi metalami oraz na glebie kontrolnej.

Przedstawienie korzystnego wpływu symbiozy z rośliną na tolerancję toksycznych metali przez grzyba *Mucor* sp.

Opisanie, na przykładzie symbiotycznej pary *Arabidopsis* i *Mucor* sp., korzystnego oddziaływania grzyba na roślinę polegającego na intensyfikacji fotosyntezy, zwiększeniu uwodnienia oraz pobierania makroelementów (N i P).

Wykazanie, że obecność endofita stymuluje wzrost wydłużeniowy włosników w sposób zależny od etylenu.

Opracowanie modelu bioremediacji toksycznych metali w roślinach dla symbiotycznej pary *Arabidopsis*-*Mucor*.

Przedstawienie globalnych zmian w transkryptomie korzenia i pędu *A. thaliana* spowodowanych obecnością metali ciężkich i endofita, oraz zdeponowanie ich w bazie NCBI.

Przybliżenie mechanizmu wzajemnej komunikacji rośliny i grzyba zależnej od strigolaktonów oraz od kwasu salicylowego, która wydaje się mieć zasadnicze znaczenie dla wykształcenia relacji symbiotycznej.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów

W artykule 1, wysłanym do druku (*Journal of Basic Microbiology*, if = 1,58), zidentyfikowano 11 rodzajów endofitów i oceniono wpływ wybranych grzybów na biomasę roślin. Określono tempo kolonizacji roślin *Arabidopsis* przez grzyba *Mucor* sp., jej rozmiary, a także drogę kolonizacji w tkankach rośliny. Przeprowadzono analizę aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych, a także analizę zmian ekspresji dużej puli genów w pędach.

W artykule 2, opublikowanym w *Environmental and Experimental Botany* (if = 3,666), udokumentowano korzystny wpływ endofita na uwodnienie rośliny, intensywność fotosyntezy, pobieranie fosforu, oraz na pobieranie i translokację toksycznych metali w roślinach. Wnioskowanie to zostało poparte analizą zmian ekspresji wybranych transporterów jonowych. Wykazano także zwiększoną ekspresję genów związanych z pobieraniem składników mineralnych oraz genów szlaku etylenowego. Ponadto, z wykorzystaniem mutantów etylenowych i auksynowych pokazano rolę endofita w wydłużaniu włóśników z udziałem sygnału etylenowego.

W artykule 3-cim, opublikowanym w czasopiśmie *Frontiers in Microbiology* (if = 4.019), przeanalizowano mechanizm wzajemnej komunikacji rośliny i grzyba z wykorzystaniem mutantów syntezy strigolaktonów. Stwierdzono że stężenie strigolaktonów wpływa na kondycję grzyba, natomiast grzyb ma zdolność degradacji SL i modyfikacji odpowiedzi obronnej rośliny z udziałem hormonów stresowych i reaktywnych form tlenu. Stwierdzono także silniejszą odpowiedź obronną rośliny przy braku percepcji sygnału strigolaktonowego.

Wartość naukową tych artykułów oceniam jako bardzo dużą.

2. Wartość merytoryczna rozprawy

Rozprawa składa się z 3 artykułów naukowych poprzedzonych wstępem. We wstępie Doktorantka przedstawiła tematykę badań odwołując się do licznych pozycji literaturowych (127), które charakteryzują obecny stan wiedzy na temat mechanizmów odporności roślin na obecność toksycznych metali w podłożu jak i na udział grzybów w modyfikowaniu tej tolerancji. W tej części Autorka zdefiniowała w sposób precyzyjny 9 hipotez badawczych, które zostały następnie zweryfikowane w badaniach omówionych w kolejnych artykułach. Zamieszczono także ogólne streszczenie w języku polskim i angielskim. Całe opracowanie liczy 186 stron.

W każdym z artykułów, na podstawie skrupulatnej analizy literatury zostały jasno zdefiniowane cele pracy. Metodyka badań jest bogata i nowoczesna, a sposób przedstawienia wyników - klarowny i przejrzysty. W rozprawie zamieszczono 1 tabelę, 4 schematy i 24 ryciny. Ponieważ większość rycin ma charakter złożony, to całkowita liczba wykresów i zdjęć jest imponująca i wynosi 51 i 78, odpowiednio. Trzeba jednak zaznaczyć, że każdy z artykułów ma kilku współautorów, a procentowy udział Doktorantki w kolejnych artykułach wynosi 72, 37 i 39.

Uzyskane dane zostały podane prawidłowej analizie statystycznej, a analiza istotności różnic została poprzedzona oceną normalności rozkładu danych i homogeniczności wariancji. Do oceny globalnych zmian transkryptomu oraz przyporządkowania genów do grup funkcyjnych użyto odpowiednich narzędzi bioinformatycznych. Wyniki zostały w sposób wnikliwy przedyskutowane z literaturą, a sformułowanie wnioski nie budzą zastrzeżeń.

3. Poprawność redakcyjna rozprawy

Rozprawa doktorska Pani mgr Agnieszki Domki została przygotowana w języku angielskim w sposób poprawny i precyzyjny. Bogaty zestaw wyników został opracowany z wielką dbałością o szczegóły naukowe oraz o szatę graficzną. W tym obszernym opracowaniu dopatrzyłam się jedynie kilku drobnych nieścisłości, które wymieniam poniżej.

W artykule 1: w Tabeli 1 podano lokalizację *Mucor* sp. tylko w nasionach, a w opisie – w pędach i w nasionach.

W artykule 1: na Fig. 3 podano skrót E-/E+, natomiast w legendzie użyto określenia TME-/TME+.

W artykule 1: na Fig. 9 nie podpisano części A i B.

W artykule 2: w legendzie do Fig. 3 zabrakło informacji o gatunku rośliny i rodzaju grzyba. Nie wyjaśniono także skrótów TM i TME+. Pierwsze zdanie jest niekompletne gramatycznie.

W artykule 3: jednostka osi OY na Fig. 6 b jest niekompletna - brakuje określenia FW.

4. Uwagi krytyczne

Artykuły 2 i 3 charakteryzują się bardziej dopracowaną formą w porównaniu do artykułu 1. Jest to zrozumiałe w świetle tego, iż zostały już przyjęte do druku w czasopismach wysoko-impaktowych. W 1-szym artykule Doktorantka ma dominujący udział w sformułowaniu hipotezy badawczej, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, opracowaniu graficznym wyników i poszukiwaniu literatury. Wydaje mi się, że bardziej logiczny, a zarazem chronologiczny, byłby układ rozdziałów wg rosnącego udziału Doktorantki, czyli 2-3-1 zamiast 1-2-3.

Wszystkie wymienione poniżej uwagi odnoszą się do artykułu 1:

Cele pracy są zbyt drobiazgowo, zostały wymienione w postaci 5-ciu oderwanych myśli i zawierają niepotrzebne szczegóły metodyczne.

Opisy wyników przedstawionych na Fig. 3, 4 i 7 są zbyt skrótowe. Warto byłoby je uzupełnić o informacje co z nich wynika dla prowadzonego eksperymentu.

W przypadku zastosowania barwników (Sudan IV i błękit trypanu) brakuje wyjaśnienia dlaczego wybrano ten zestaw barwników.

Brak wyjaśnienia dlaczego wybrano akurat takie enzymy stresowe: CAT i FeSOD.

Dlaczego na Fig. 7 nie zastosowano takiego samego wskaźnika zmian biomasy jak na Fig.1, czyli „relative total biomass”?

Czy przy badaniu wczesnej odpowiedzi roślinnej na infekcję grzybową nie należałoby raczej szukać w transkryptomie korzenia niż pędu?

5. Ocena końcowa

Podsumowując, pragnę stwierdzić, że oceniana praca pod względem poziomu merytorycznego i wartości poznawczej, zasługuje na wysoką ocenę. Wszystkie moje uwagi nie ujmują wartości merytorycznej pracy i stanowią jedynie wskazówki przydatne przy dalszym opracowywaniu tekstu.

Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **Pani mgr Agnieszki Domki** 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) i wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie **Pani mgr Agnieszki Domki** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ja, niżej podpisana wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej ze względu na: wysoką rangę naukową uzyskanych wyników i ich znaczenie poznawcze, a także na profesjonalny sposób ich opisu na tle aktualnego stanu wiedzy.

8-10.2018

data sporządzenia recenzji



podpis recenzenta