



RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Agnieszki Woźniak

pt. "Wpływ ołowiu na generowanie cząsteczek sygnałowych w siewkach grochu (*Pisum sativum* L.) odm. Cysterski w odpowiedzi na żerowanie mszycy grochowej [*Acyrtosiphon pisum* (Harris)]"

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani magister inżynier Agnieszki Woźniak, wykonana została pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Iwony Morkunas, w Katedrze Fizjologii Roślin, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Recenzowana praca dotyczy charakterystyki odpowiedzi rośliny uprawnej (Groch zwyczajny; *Pisum sativum* L.) poddanej wielokrotnemu stresowi. Początkowo abiotycznemu tj. podwyższonej zawartości jonów metali ciężkich w podłożu hodowlanym, a następnie stresowi biotycznemu wywołanemu poprzez zasiedlenie roślin przez mszyce, które są jednym z najbardziej niszczycielskich szkodników roślin uprawnych i ozdobnych. Prowadzone analizy dotyczą określenia tempa i poziomu zmian w produkcji cząstek sygnałowych, tzw. alarmonów stresu, w tkankach roślin a także próby oceny ich wpływu na parametry demograficzne oraz intensywność żerowania patogennych owadów.

Rozprawę stanowi kompilacja trzech, spójnych tematycznie artykułów, opublikowanych w latach 2017-2019 w międzynarodowych czasopismach naukowych, o sumarycznym pięcioletnim współczynniku oddziaływania (5-year Impact Factor; IF) wynoszącym 9,996. Dwie z tych prac są pracami doświadczalnymi a jedna ma charakter przeglądowy. W skład rozprawy, poza wspomnianymi wcześniej publikacjami, wchodzi omówienie w języku polskim zawierające: wprowadzenie, cele rozprawy, analizę uzyskanych wyników oraz wnioski. Do dysertacji dołączono także streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spis artykułów, których doktorantka jest współautorką, ale nie wiążących się bezpośrednio z przedmiotem rozprawy doktorskiej oraz dane o prezentacjach konferencyjnych, w których doktorantka uczestniczyła.

Rozprawie towarzyszy pełen zestaw oświadczeń współautorów prac składających się na rozprawę. Treści oświadczeń jasno określają, co było udziałem doktorantki w realizacji badań tworzących dysertację. Z oświadczeń wynika że mgr inż. A. Woźniak odgrywała dominującą

rolę w przeprowadzeniu części eksperymentalnej opisanych badań a także brała udział w przygotowaniu manuskryptów publikacji. Należy zaznaczyć, że doktorantka jest pierwszym autorem w dwu artykułach, przedstawiających wyniki prac własnych, a drugim autorem w wieloautorskiej pracy przeglądowej.

W świetle przedstawionych danych, dobór tych prac, tak aby tworzyły rozprawę doktorską nie budzi moich wątpliwości. Prace stanowiące rozprawę, przed opublikowaniem w periodykach naukowych, podlegały wnikliwej i rygorystycznej recenzji (peer-review) angażującej specjalistów i edytorów naukowych i uzyskały ich pozytywne opinie. Nie widzę zatem konieczności omawiania strony edytorskiej tych prac w dalszej części mojej oceny.

Zrozumienie molekularnych podstaw interakcji środowisko-roślina a także roślina-patogen są niezwykle interesującym zagadnieniem naukowym, ale także warunkiem *sine qua non* dla prowadzenia skutecznych programów hodowlanych i fitosanitarnych, mających na celu zredukowanie strat w uprawie czy przechowalnictwie plonu. Mszyce są jednym z głównych wektorów odpowiedzialnych za wywoływanie i rozprzestrzenianie się groźnych dla roślin chorób. Dotyczy to zarówno ważnych rolniczo gatunków, jak również roślin ozdobnych. Dotychczas nie poznaliśmy na tyle naturalnych mechanizmów obronnych roślin, by skutecznie przeciwdziałać inwazjom tych szkodliwych owadów. Jediną, bardzo kosztowną i dodatkowo obciążającą środowisko formą ochrony roślin przed mszycami, jest systematyczna chemizacja upraw. Dlatego poznanie naturalnych mechanizmów zabezpieczających uprawy przed żerowaniem mszyc jest bez wątpienia zagadnieniem mającym wysoki priorytet.

Oceniana rozprawa dotyczy właśnie tej tematyki. Zastosowane przez doktorantkę podejścia doświadczalne są nowatorskie, a co najważniejsze atrakcyjne z punktu widzenia wiedzy podstawowej.

W pierwszej z prac (Woźniak i in., 2017 *Molecules* 22, 1404) weryfikowano hipotezę o możliwości zastosowania stresu abiotycznego wywołanego podaniem jonów metali ciężkich, w niskich dawkach, dla protekcji rośliny grochu przed inwazją i żerowaniem owadów (mszycy). Autorzy stwierdzili, że podanie jonów ołowiu indukuje ścieżki sygnałowe (synteza reaktywnych form tlenu, synteza salicylanów czy synteza kwasu abscysynowego) wiodące do uruchamiania reakcji obronnych (np. indukcji biosyntezy flawonoidów) ograniczających niekorzystne skutki żerowania mszyc. Zjawisko podobne, polegające na porażeniu roślin łagodnym patogenem by nabyły odporność na szerokie spektrum wtórnych infekcji, zaobserwowane i opisane wcześniej przez fitopatologów jest wykorzystywane w praktyce, i nazywane odpornością krzyżową (ang. cross-protection).

W drugiej z prac składających się na dysertację (Woźniak i in., 2019 *J. Plant Physiol.*) badano jak ekspozycja siewek grochu na różne stężenia jonów ołowiu wpływa na skuteczność

odpowiedzi obronnej roślin przed zasiedlaniem przez mszycę grochową (*Acyrtosiphon pisum* Harris), koncentrując się na możliwości bezpośredniego toksycznego działania ołowiu na owady i wynikające z tego konsekwencje.

W ostatniej z prac (Morkunas i in., 2018 *Molecules* 23, 2320), która jest pracą przeglądową przedstawiono całościowy obraz opisujący zależności pomiędzy stresem abiotycznym wywołanym poprzez podwyższone poziomy różnych metali ciężkich a podatnością roślin na infekcje grzybowe, czy inwazje i żerowanie owadów.

Analizując dysertację Pani mgr inż. A. Woźniak, nasunęło mi się kilka pytań i wątpliwości, na które nie znalazłem odpowiedzi. W związku tym proszę o ustosunkowanie się do nich i omówienie podczas publicznej obrony:

1. Jakie przesłanki zadecydowały o wyborze jonów Pb jako czynnika wywołującego stres abiotyczny?
2. Czy mając dzisiejszą wiedzę i doświadczenie, Doktorantka planując podobne analizy ponownie zdecydowałaby się na wybór podwyższonego stężenia jonów metali ciężkich jako czynnika abiotycznego wywołującego syntezę cząsteczek sygnałnych?
3. W jaki sposób wyznaczono stężenie $Pb(NO_3)_2$ jako wywołujący hormezę?
4. Analizując Rycinę 3 (str. 13) zauważyłem, że zastosowanie $Pb(NO_3)_2$ w stężeniu $75 \mu M$ wywołują częściowe zahamowanie wzrostu korzeni bocznych. Czy określano mokrą/suchą masę korzeni oraz części nadziemnej roślin w warunkach kontrolnych i w obecności jonów Pb, czy jedynie ograniczono się do pomiaru długości korzenia i pędu?
5. Czy badając zmiany w ekspresji genu kodującego amoniakoliazę L-fenylalaniny (PAL) uwzględniano obecność w genomie kilku sekwencji kodujących różne izoformy tego enzymu?
6. Czy obserwując zmiany w poziomie syntezy kwasu salicylowego nie należałoby się skoncentrować na badaniu szlaku wiodącego od kwasu szikimowego do izochoryzmowego a następnie salicylowego a nie ścieżki syntezy zależnej od PAL?
7. Mając na uwadze koncepcję wskazującą chloroplasty, jako miejsce syntezy kwasu salicylowego, czy obserwowane przez Doktorantkę zmiany w poziomie salicylanów w obrębie korzeni wynikają z ich lokalnej syntezy *de novo*, czy raczej przemieszczania pomiędzy częścią nadziemną i korzeniami roślin?

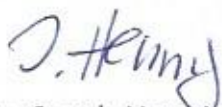
W podsumowaniu chcę stwierdzić, że przedstawione badania reprezentują wysoki poziom naukowy, wnoszą nowe i ważne treści do ogólnej wiedzy na temat podstaw ochrony roślin przed inwazyjnym zasiedlaniem roślin przez mszycę, co jest poważnym problemem fitosanitarnym nie tylko w Polsce, lecz także w skali globalnej.

Uważam, że oceniana praca spełnia wszystkie wymogi formalne, zawarte w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.), stawiane rozprawom doktorskim a wielu elementach znacznie je przekracza.

Warty podkreślenia jest również fakt, że podczas studiów doktoranckich mgr inż. Agnieszka Woźniak zdobyła samodzielnie finansowanie na prowadzenie badań, w ramach konkursu PRELUDIUM-13, przeprowadzonego przez Narodowe Centrum Nauki. Ponadto, aktywnie realizowała kilka różnych projektów badawczych.

Zwracam się zatem do Rady Naukowej Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr inż. Agnieszki Woźniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wartość poznawczą przeprowadzonych badań oraz ich opublikowanie w uznanych periodykach naukowych, przedkładam wniosek o wyróżnienie jej stosowną nagrodą.



Prof. dr hab. Jacek Hennig
Warszawa, 29.VII.2019 r.