



Zakład Taksonomii Roślin
ul. Umultowska 89
61-614 Poznań
tel: 61 8295694
lembicz@amu.edu.pl

Poznań, 21 maja 2017 roku

Ocena

rozprawy doktorskiej Pani mgr Soni Szymańskiej pt.

Bakterie endofityczne i ryzosferowe halofitów *Salicornia europaea* i *Aster tripolium*

wykonanej w Zakładzie Mikrobiologii
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Hryniewicz, prof. UMK

Forma pracy

Rozprawa ma postać monografii liczącej 224 strony. Całość zawiera wszystkie elementy charakterystyczne dla tego typu opracowania: (1) wstęp – to bardzo rzetelna i głęboka analiza obecnego stanu wiedzy dotyczącego wpływu zasolenia na mikroorganizmy i ich interakcje z roślinami oraz technik stosowanych w ocenie bioróżnorodności zarówno funkcjonalnej, strukturalnej i taksonomicznej, (2) jasno przedstawiony problem badawczy i cztery dobrze sformułowane hipotezy – prawdopodobne odpowiedzi wyjaśniające badany problem, (3) metody i techniki badań – aktualnie stosowane w rozwiązywaniu przedstawionych problemów, precyzyjnie opisane od sposobu próbkowania, przez analizy molekularne do

analiz statystycznych, (4) dyskusja – krytyczne podsumowanie, zawierające własne zdanie doktorantki w odniesieniu do uzyskanych wyników, oparte na ogromnej liczbie danych literaturowych (419 pozycji bibliograficznych) dotyczących badanego problemu. Doktorantka udowodniła, że jest doskonale zorientowana w dotychczasowym stanie wiedzy na temat Jej problemu badawczego. To niewątpliwie imponująca praca doktorska, zarówno pod względem merytorycznym jak i edytorskim.

Pani mgr Sonia Szymańska jest współautorką czterech artykułów naukowych, w których jest pierwszym autorem, przy czym trzy z nich są opublikowane w czasopismach z tzw. listy A MNiSzW (Ecoscience IF 0,97, 2 prace w Microbiological Research IF 2,72.). Artykuły te wystarczyłyby do ubiegania się przez nią o stopień doktora. Monografię wzbogacającą dodatkowe wyniki nieopublikowane w w/w artykułach. To bardzo wymagająca forma pracy i Doktorantka poradziła sobie z nią doskonale.

Miejsce realizacji badań doktorantki

Pani mgr Sonia Szymańska jest doktorantką Zakładu Mikrobiologii i pod kierunkiem Pani dr hab. Katarzyny Hryniewicz prowadziła swoje badania i wykonała pracę doktorską. W polskich i światowych ośrodkach naukowych Promotor pracy jest rozpoznawalna jako wybitna specjalistka w zakresie biologii organizmów endosymbiotycznych i ich wykorzystaniu w biotechnologii i rolnictwie. To dzięki Pani Profesor Katarzynie Hryniewicz UMK został partnerem projektu (razem z Uniwersytetem w Kopenhadze) w ramach programu HORYZONT 2020. Pani Sonia Szymańska miała więc wyjątkową możliwość działania w bardzo dobrym ośrodku i zespole. Prace były wykonywane w ramach grantu NCN OPUS 4.

Hipotezy, eksperymenty, metody

Pani mgr Szymańska w licznych eksperymentach testowała cztery hipotezy dotyczące bakterii endofitycznych i ryzosferowych związanych z dwoma gatunkami typowych halofitów – *Salicornia europaea* i *Aster tripolium*. Oba gatunki zostały wcześniej w Jej macierzystym ośrodku bardzo dobrze poznane pod względem ekologicznym i fizjologicznym. Doktorantka sprawdzała dodatkowo potencjał aplikacyjny wyizolowanych bakterii badając ich właściwości metaboliczne, obecność genów kodujących reduktazę nitrogenazy i dezaminazę oraz dokonywała selekcji szczepów promujących wzrost roślin dwóch gatunków wykorzystywanych przez człowieka – buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris*) oraz rzepaku (*Brassica napus*). Za szczególnie interesujące uważam dwie hipotezy: (1) wyjaśniającą bioróżnorodność funkcjonalną i strukturę bakterii zależną od gatunku zasiedlanego

gospodarza i poziomu zasolenia, (2) dotyczącą wpływu interakcji bakterii z gospodarzem na ich potencjał metaboliczny wspomagający wzrost i rozwój roślin.

Doktorantka podjęła się analizy wyjątkowo skomplikowanych interakcji mających miejsce wewnątrz rośliny. Opanowała techniki i narzędzia stosowane do diagnozowania endosymbiontów roślin oraz efektów ich interakcji z roślinami. Nie mam zastrzeżeń do zastosowanych analiz statystycznych. Ich opanowanie przez Doktorantkę było możliwe zarówno dzięki własnemu talentowi i pracy, ale także przy udziale współpracowników (co wynika z podziękowań w pracy i współautorstwa opublikowanych dotąd artykułów). Nie bez znaczenia były również fundusze pozyskane przez Promotora pracy.

Wyniki

Do najważniejszych wyników, dzięki którym lepiej rozumiemy biologię i ekologię interakcji roślin z endosymbiontami zaliczam: (1) pokazanie, że bakterie ryzosferowe i glebowe na stanowisku bardziej zasolonym charakteryzują się efektywniejszym mechanizmem adaptacji do życia w warunkach stresu solnego, (2) odkrycie wielu szczepów bakterii, które potencjalnie mogą promować wzrost roślin, np. wśród endofitów i ryzobakterii *Aster tripolium* oraz endofitów korzeniowych *Salicornia europaea* pochodzących ze stanowiska zlokalizowanego w okolicach fabryki sody w Inowrocławiu, oraz (3) wykazanie stymulującego wpływu konkretnych szczepów endofitów (*P. stutzeri* ISE-12 i *K. marisflavi* CSE-9) na wzrost i rozwój badanych roślin uprawnych. Wykazano istotność pokrewieństwa gatunkowego pomiędzy rośliną, z której izolowano endofity oraz tą, która jest nimi inokulowana.

Wartością dodaną pracy Pani mgr Szymańskiej są zidentyfikowane taksonomicznie szczepy endosymbiontów bakteryjnych dla dwóch kluczowych dla solnisk gatunków halofitów. Wiedza ta pozwala zrozumieć szeroko ujmowaną różnorodność życia.

Znaczenie

Wiedza o interakcjach endosymbiontów (w tym bakteryjnych) ma istotne znaczenie dla zrozumienia ewolucyjnych innowacji występujących u poszczególnych jej partnerów, które doprowadziły do rozwoju gatunkowej różnorodności biosfery. Poznanie bioróżnorodności funkcjonalnej, struktury populacji i zróżnicowania taksonomicznego bakteryjnych endosymbiontów roślin jest niezwykle ważne ze względu na możliwość wykorzystania tej wiedzy w fitoremediacji, a także do kontroli bakterii i grzybów chorobotwórczych roślin jako alternatywę dla pestycydów i antybiotyków czy też wiązania

azotu atmosferycznego i ograniczenia emisji dwutlenku węgla. Ostatnio Akcje COSTu - zakończona (FA1103 *Endophytes in Biotechnology and Agriculture*) i trwająca (FA1405, *Food and Agriculture, Using three-way interactions between plants, microbes and arthropods to enhance crop protection and production*) są poświęcone tej właśnie problematyce. Dzięki badaniom Pani mgr Soni Szymańskiej dowiedzieliśmy się na przykład, że niektóre szczepy bakterii można (dokonując sztucznych symbioz) wykorzystać w uprawach roślin o znaczeniu gospodarczym dla człowieka na coraz rozleglejszych terenach zasolonych. Jest to fakt potwierdzony badaniami eksperymentalnymi, co jest istotne w wypadku roślin hodowlanych, w przypadku których wymagana jest wcześniejsza znajomość efektów tego typu interakcji. Doktorantka zdiagnozowała je w odniesieniu do poszczególnych gatunków.

Symbioza w ujęciu ewolucyjnym to typ interakcji, w wyniku której może dochodzić do zmiany w dostosowaniu obu jej partnerów. Zmierzone efekty początkowe sztucznej symbiozy roślin endofitami mogą być inne od tych, które pojawiają się później. I nie muszą to być wcale efekty przez nas pożądane (np. większy wzrost rośliny z endofitem). Interakcja symbiotyczna – także ta sztucznie generowana – to kontinuum oddziaływań o różnej sile i znaczeniu, zmieniających się w czasie i przestrzeni. Wynika to z mozaiki siedlisk, zróżnicowania historii życia partnerów oraz różnego czasu powstania i trwania interakcji. I wreszcie symbioza to mechanizm prowadzący do ewolucyjnych innowacji wzrostu gatunkowej różnorodności biosfery (Brucker i Bordenstein 2012). Szczepy endofitów uznawane za tzw. bezpieczne, mogą nie być po pewnym czasie genetycznie tymi samymi szczepami. Rośliny ze sztucznie wprowadzonymi endosymbiontami przeniesione do naturalnego środowiska rozpoczną swoją własną „grę ewolucyjną”, której efektów nie jesteśmy w stanie przewidzieć. Po tej refleksji (trochę prowokacyjnej) stawiam pytanie dla Doktorantki do dyskusji: czego musimy się jeszcze dowiedzieć o zidentyfikowanych w pracy endosymbiontach i jakie wykonać eksperymenty, aby te organizmy można było wykorzystać (na szeroką skalę) do poprawy kondycji buraka i rzepaku?

Podsumowując, praca Pani mgr Soni Szymańskiej spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim (*Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych oraz o stopniach naukowych w zakresie sztuki, Dz. U. 2003.56.595, z późniejszymi zmianami*) ze względu na: (1) aktualny problem naukowy, jasno sprecyzowane cele, perfekcyjnie wykonane eksperymenty, zastosowane techniki badawcze oraz (2) wyniki, które zwiększają naszą wiedzę na temat interakcji biotycznych oraz są niezwykle ważne w gospodarce rolnej na terenach zasolonych. Doktorantka dowiodła, że opanowała warsztat naukowy i jest

przygotowana do rozwiązywania wieloaspektowych zadań badawczych. Bardzo wysoko oceniam umiejętność analizy skomplikowanych interakcji biotycznych oraz stopień opanowania różnych technik badawczych.

Przedkładam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Pani mgr Soni Szymańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę krytycyzm w interpretacji wyników i wnioskowaniu, biegłość warsztatową oraz aplikacyjny charakter badań pozwalam sobie również wystąpić z wnioskiem o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej.

Marlena Lembicz.

(dr hab. Marlena Lembicz, prof. UAM)