

Dr hab. Grażyna Garbaczewska prof. nadzw.
Katedra Botaniki
Wydział Rolnictwa i Biologii SGGW

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
MGR INŻ. MAGDALENY BEDERSKIEJ-BŁASZCZYK

pt.: „Struktura oraz aktywność wybranych składników systemu antyoksydacyjnego brodawek lucerny (*Medicago truncatula* Gaertn.) różniących się efektywnością w wiązaniu N₂”

„ Structure and activity of selected antioxidant system compounds in barrel medic (*Medicago truncatula* Gaertn.) root nodules different in nitrogen fixation effectiveness”

Promotor: dr hab. Wojciech Borucki

Przedstawiona do recenzji rozprawa mgr inż. Magdaleny Bederskiej -Błaszczyk dotyczy problematyki związanej z różnicami strukturalno-metabolicznymi dotyczącymi w szczególności systemu autooksydacyjnego warunkującymi efektywność brodawek podczas biologicznego wiązania azotu atmosferycznego w układzie symbiotycznym:

roślina modelowa lucerna *Medicago truncatula* Gaertn. z rodziny *Fabaceae* i dwa szczepy bakterii naturalnie występujących w glebie: *Sinorhizobium medicae* WSM 419 i *Sinorhizobium melilotii* 1021. Szczepy różni zdolność do indukcji brodawek efektywnych (pierwszy szczep - *S. medicae*) i częściowo efektywnych (drugi szczep - *S. melilotii*)

Badania nad symbiozą roślin motylkowych i bakterii brodawkowych z zastosowaniem metod cytologicznych i morfometrycznych na różnych modelach roślina-symbiont prowadzone są w Katedrze Botaniki od kilkunastu lat. Dotychczas wykonano 2 rozprawy habilitacyjne i 5 prac doktorskich, w tym rozprawa doktorska i habilitacyjna, dr hab. Wojciecha Boruckiego promotora recenzowanej rozprawy doktorskiej. Opublikowanych zostało kilkanaście artykułów naukowych, w tym Pani mgr inż. Magdalena Bederska-Błaszczyk jest współautorem 3 artykułów w czasopismach wysokopunktowanych.

Celem badań recenzowanej rozprawy doktorskiej było poznanie cech ważnych dla efektywności porównywanych szczepów bakterii *Sinorhizobium*, w pełni efektywnych i częściowo efektywnych, naturalnie występujących w glebie, w procesie wiązania azotu przez brodawki korzeniowe lucerny *Medicago truncatula* Gaertn.

Wybór tematyki badawczej recenzowanej rozprawy jest uzasadniony ze względu na wyjątkowe znaczenie prac nad układem symbiotycznym rośliny motylkowate-rizobia w

naukach przyrodniczych. Są one obiektem dostarczającym informacji o oddziaływaniach pomiędzy gatunkami organizmów eukaryotycznego i prokaryotycznego w aspekcie strukturalnym, jak i obiektu badań nad przekazywaniem sygnałów. Natomiast w naukach rolniczych biologiczne wiązanie azotu atmosferycznego ma ogromne znaczenie ze względu na praktyczne zastosowania o wymiernej wartości ekonomicznej.

Strona redakcyjna rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Bederskiej- Błaszczyk odpowiada przyjętym zasadom prac doktorskich: obejmuje 9 rozdziałów; 158 stron tekstu, 469 pozycji literatury. Rozdział 9 stanowi bogata dokumentacja fotograficzna złożona z 47 tablic, łączna liczba fotografii 112 z mikroskopu świetlnego, w tym fluorescencyjnego, 66 fotografii z mikroskopu elektronowego i 58 z mikroskopu konfokalnego oraz fotografie makroskopowe. Na podkreślenie zasługuje bardzo dobra jakość i wartość merytoryczna przedstawionej dokumentacji oraz sposób jej prezentacji.

We wstępie Autorka przedstawiła znaczenie symbiozy organizmów oraz biologicznego wiązania azotu przez układ symbiotyczny bobowate-rizobia wskazując na znaczenie właściwości genetycznych obu komponentów roślina-bakteria, a także czynników abiotycznych takich jak gleba, nawożenie, zasolenie, stres osmotyczny itd. Jednocześnie wskazała, że mimo wielu badań dotyczących struktury, rozwoju brodawek i metabolizmu tych organów, a także czynników warunkujących efektywność brodawek takich jak np. zaopatrzenie w asymilaty czy wodę brakuje wiedzy, która porównywałaby procesy powstawania brodawek w korzeniach rośliny gospodarza indukowanych przez szczepy o różnym poziomie efektywności oraz procesy oddychania z generowaniem reaktywnych form tlenu oraz odpowiedzią systemu antyoksydacyjnego.

Przegląd literatury rozprawy jest obszernym (42 strony) opracowaniem aktualnego stanu wiedzy w zakresie układu symbiotycznego odnoszącego się do procesu rozwojowego brodawek korzeniowych, metabolizmu brodawki korzeniowej, podstaw genetycznych wiązania azotu oraz translokacji asymilatów i wody w obrębie brodawki korzeniowej. Szczególnie wyczerpująco Autorka przedstawiła problem reaktywnych form tlenu w metabolizmie roślin i brodawek korzeniowych oraz system antyoksydacyjny brodawek korzeniowych.

Cel eksperymentalny rozprawy został przez Doktorantkę bardzo dobrze wyznaczony i sformułowany. Podjęto próbę wskazania cech istotnych dla efektywności brodawek korzeniowych lucerny w wyniku porównania brodawek korzeniowych lucerny o 1/maksymalnej i 2/znacznie zmniejszonej efektywności wiązania azotu w kilku

aspektach: strukturalnym, dostarczania wody i asymilatów, aktywności metabolicznej oraz generowania reaktywnych form tlenu i azotu oraz aktywności wybranych składników systemu antyoksydacyjnego.

Do przeprowadzenia wyznaczonych celów posłużyły zadania badawcze wykonane z zastosowaniem wielu metod mikroskopowych: świetlnej, fluorescencyjnej, elektronowej i konfokalnej, odpowiednie techniki (21) fluorescencyjne i cytochemiczne oraz analiza morfometryczna.

Za najważniejsze osiągnięcia recenzowanej rozprawy doktorskiej uznałam:

1/ przeprowadzenie analizy dotyczącej wzrostu i brodawkowania *Medicago truncatula* indukowanych dwoma szczepami *Sinorhizobium*, o różnej efektywności wiązania azotu oraz wnikliwej analizy mikroskopowej anatomii i ultrastruktury brodawek korzeniowych w odniesieniu do kolejnych stref począwszy od merystemu, penetracji nici infekcyjnej, stref symbiozy i tkanek korowych. Analiza morfometryczna umożliwiła lepsze wykazania różnic w wakuolizacji poszczególnych stref brodawek, wielkości i liczbie bakteroidów oraz różnice w gromadzeniu ziaren skrobi oraz analizie profili organelli komórkowych.

2/ wskazanie znaczenia powierzchni kontaktu symbiosomu z cytosolem czyli roli membrany symbiosomu (błony peribakteroidalnej) jako parametru istotnego w efektywności brodawek w procesie wiązania azotu.

3/ wykazanie, że brodawki mniej efektywne mają metabolizm na wyższym poziomie – tzn. wyższa aktywność esteraz, dehydrogenazy bursztynianowej, a jednocześnie występuje w ich komórkach większe gromadzenie skrobi, jednocześnie nie ma znaczących różnic w poziomie reaktywnych form tlenu, natomiast czynniki antyoksydacyjne (glutation i kwas askorbinowy) występują na wyższym poziomie w układzie brodawek mniej efektywnych.

4/ wykazanie w niciach infekcyjnych brodawek w pełni efektywnych obecność tlenku azotu, którego nie identyfikowano w strefie penetracji nici infekcyjnej brodawek mniej efektywnych. Może to oznaczać, że NO jest wskaźnikiem efektywności brodawki korzeniowej

5/ przeprowadzenie metodami wizualizacji porównania drogi transportu wody w korzeniu i brodawce efektywnej i mniej efektywnej, translokacji asymilatów oraz rozmieszczenia połączeń plazmodesmalnych pomiędzy komórkami tkanki bakteroidalnej. Uzyskane wyniki nie wykazują różnic między badanymi typami

brodawek, ale włączają się do badań podejmujących wyjaśnienie szlaków transportu wody i asymilatów w korzeniach i brodawce zasiedlonej przez symbionta.

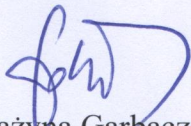
W podsumowaniu rozprawy jest postawiony przez Autorkę problem, co jest głównym czynnikiem określającym efektywność brodawki korzeniowej i wstępna próba odpowiedzi. Czy dzisiaj można tę odpowiedź bardziej rozszerzyć?

Reasumując, mgr inż. Magdalena Bederska Błaszczuk stosując wiele metod mikroskopowych, cytochemicznych i morfometrycznych znacznie poszerzyła wiedzę dotyczącą układu symbiotycznego lucerna - rhizobium.

Rozprawa doktorska jest przygotowana bardzo starannie, tekst jasno i przejrzysto napisany, nieliczne literówki zaznaczyłam w pracy (jak np. fuorescencyjne zamiast fluorescencyjne), dokumentacja fotograficzna i opisy bardzo dobrze wykonane. Znalezione nieścisłości dotyczące fotografii również zaznaczyłam w egzemplarzu pracy. Nie stwierdziłam błędów w cytowaniach literatury.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Bederskiej-Błaszczuk pt. : "Struktura oraz aktywność wybranych składników systemu antyoksydacyjnego brodawek lucerny (*Medicago truncatula* Gaertn.) różniących się w wiązaniu N₂" spełnia wymogi Ustawy o stopniach i tytule naukowym. Zwracam się do Rady Wydziału Rolnictwa i Biologii SGGW w Warszawie o dopuszczenie mgr inż. Magdaleny Bederskiej - Błaszczuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego nadania stopnia dr nauk biologicznych. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy stosowną nagrodą ze względu na wysoką wartość przygotowanej rozprawy.


/Dr hab. Grażyna Garbaczewska prof. nadzw./

20.01.16.