

Prof. dr hab. Paweł Sowiński
Zakład Ekofizjologii Molekularnej Roślin
Instytut Biologii Eksperymentalnej i Biotechnologii Roślin
Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego
02-096 Warszawa, Miecznikowa 1



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marty Gietler pt. „Analiza zmian w proteomie siewek pszenicy (*Triticum aestivum* L.) różniących się wrażliwością na deficyt wody.

Wzrost i rozwój roślin podlegają licznym ograniczeniom ze strony środowiska, szczególnie w sytuacji, gdy natężenie czynnika niekorzystnego jest na tyle duże, że powoduje zaburzenia struktury lub funkcji organizmu, a więc stres. Jednym z ważnych czynników stresowych jest deficyt wodny. Większość roślin wyższych, to organizmy homeohydryczne, a więc zdolne do utrzymywania stałego potencjału wodnego w warunkach zmiennej dostępności wody w środowisku. Przedłużający się lub zbyt silny deficyt wodny może jednak doprowadzić do zaburzenia równowagi wodnej rośliny, często ze zgubnymi dla niej skutkami. W cyklu rozwojowym roślin wyższych występuje jednak stadium poikilohydryczne, kiedy organizm dobrze toleruje niski potencjał wodny. Taką cechą wykazują m.in. nasiona i ziarniaki. Zdolność tę tracą już po kilku dniach kiełkowania i mechanizmowi leżącemu u podstaw tego zjawiska jest poświęcona rozprawa doktorska mgr Marty Gietler. Należy zaznaczyć, że praca powstała pod opieką naukową prof. dr hab. Barbary Zagdańskiej, wybitnej specjalistki w zakresie fizjologii i biochemii stresu wodnego u roślin. Tematyka ta jest ostatnio twórczo rozwijana przez dr inż. Małgorzatę Nykiel, będącą promotorem pomocniczym recenzowanej rozprawy.

Ocena formalna

Rozprawa została przygotowana w nowoczesnej formie, jako zbiór trzech artykułów oryginalnych, w tym dwóch już opublikowanych w 2016 r. (Plant Growth Regulation i Plant Physiology and Biochemistry) i jednym złożonym do druku w Environmental and Experimental Botany. W trakcie przygotowywania tej recenzji, artykuł złożony do druku został zaakceptowany do publikacji przez redaktora naczelnego, o czym autorzy zostali zawiadomieni drogą e-mailową. Artykuł nie ma jeszcze wprawdzie numeru DOI, ale można go już uznać za „przyjęty do druku”, co jest istotne z punktu widzenia prawodawstwa

odnośnie wymogów stawianych rozprawom doktorskim (Dz. Us. z 2016 r., poz. 882). Do rozprawy Doktorantka dołączyła odbitkę pracy przeglądowej opublikowanej w *Postęпах Biologii Komórki* (2016 r.), praca ta jednak nie wchodzi formalnie w skład rozprawy, jako, że została opublikowana przed wszczęciem przewodu doktorskiego, a także, ponieważ nie stanowi oryginalnego rozwiązania problemu naukowego, jak tego wymaga prawodawca. Całość jest opatrzona rozdziałem zatytułowanym „omówienie własnych wyników na tle literatury”, który ma w założeniu wprowadzać czytelnika w tematykę rozprawy, uzasadniać podjęcie badań oraz omawiać ich wyniki.

Pisma, w których opublikowano lub przyjęto do druku prace wchodzące w skład rozprawy są co najmniej średniej klasy. Wszystkie znajdują się w Części A Wykazu Czasopism Naukowych MNiSzW, a więc spełniają wymóg Ustawy. *Plant Growth Regulation* ma 30. pkt. MNiSzW, *Plant Physiology and Biochemistry* 35 pkt., natomiast *Environmental and Experimental Botany* 35 pkt. Prace zostały opublikowane niedawno, tym bardziej należy zaznaczyć, że pierwsza, najstarsza z prac (dostęp online od 28.10.2015) wchodzących w skład rozprawy ma już kilka cytowań, a druga (dostęp online od 28.08.2017) jedno. Ponieważ artykuły te są dostępne w sieci (open access), a pisma, w których zostały opublikowane cieszą się dobrą opinią można się spodziewać licznych cytowań w przyszłości.

Prace wchodzące w skład rozprawy są wieloautorskie. W takim przypadku, Ustawa wymaga, aby wykazać indywidualny wkład kandydata przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników pracy. Do rozprawy dołączono oświadczenia autorów o ich udziale w powstaniu poszczególnych artykułów, przy czym określono, jaki był charakter ich wkładu i udział procentowy. Z doświadczenia wiem, że ten ostatni parametr jest wyjątkowo trudny do oszacowania. W przypadku rozpraw doktorskich w formie takiej, jak recenzowana szczególnie trudno ocenić, jakie znaczenie dla powstania artykułów miał fakt rozpoczęcia projektu doktorskiego w konkretnej grupie badawczej mającej wieloletnie doświadczenie i dorobek w danej dziedzinie. Niemniej z punktu widzenia recenzenta oceniającego pracę również pod kątem formalnym, najważniejszym świadectwem indywidualnego wkładu Doktorantki jest fakt, że we wszystkich pracach wchodzących w skład rozprawy jest ona pierwszym i korespondencyjnym autorem. Zwyczajowo w naukach przyrodniczych na świecie taka pozycja oznacza, że autor brał udział w opracowaniu koncepcji artykułu, wykonał większość pracy eksperymentalnej, opracowywał wyniki i napisał znaczącą część tekstu. Tak więc również wymóg indywidualności wkładu Doktorantki w prace składające się na rozprawę doktorską uważam za spełniony.

Ocena merytoryczna

Trzy prace oryginalne wchodzące w skład rozprawy uzyskały już pozytywną ocenę recenzentów, a także redaktorów wyżej wymienionych pism z dziedziny Plant Science. Z tego względu nie widzę potrzeby ponownej recenzji merytorycznej już opublikowanych artykułów. Moja ocena odnosi się więc do całości rozprawy, bez wnikania w szczegóły metodologiczne.

Projekt dotyczy ważnego i ciekawego zagadnienia, jest zrealizowany nowoczesnymi technikami, szczególnie w odniesieniu do proteomiki i niewątpliwie wniósł wiele nowych danych do dziedziny, której był poświęcony. Kolejne prace układają się w logiczny ciąg, począwszy od stwierdzenia różnic w potencjale oksydo-redukcyjnym liści siewek pszenicy w stadiach, w których tolerują one bądź nie tolerują odwodnienia, po wskazanie potencjalnego znaczenia S-glutationizacji, S-nitrozylacji i karbonylacji białek dla odporności siewek pszenicy na odwodnienie. Wskazano też białka, które mogą odgrywać ważną rolę w badanym mechanizmie, zarówno w sygnalizacji stresu, jak i w reakcjach obronnych.

O ile nie mam poważniejszych zastrzeżeń do poszczególnych prac, a także ich powiązania w ciąg logiczny, podczas czytania rozprawy odczułem pewien brak osadzenia całości na tle wiedzy o mechanizmach tolerancji deficytu wodnego. Prace oryginalne są skupione na konkretnych celach cząstkowych, więc zawężenie uzasadnienia ich podjęcia jest zrozumiałe. Szerszego spojrzenia zabrakło jednak w części wstępnej rozprawy, a przecież problem odpowiedzi roślin na deficyt wodny nie ogranicza się jedynie do zmian potencjału oksydo-redukcyjnego. Przeciwnie, ogromna literatura tematu, jako główne skutki stresu wodnego podnosi m.in. zmiany potencjału wodnego komórki oraz zmianę oddziaływań między błoną komórkową, a ścianą komórkową, co może mieć znaczenie dla generowania sygnału o stresie. Równie ważnym elementem jest zaburzenie związków między cząsteczkami wody a makromolekułami, co może powodować zmiany strukturalne tych ostatnich. Oczywiście oba mechanizmy, a więc ten związany ze zmianami potencjału wodnego oraz drugi, wynikający z modyfikacji potencjału oksydo-redukcyjnego nie wykluczają się nawzajem, a ich szlaki sygnalizacyjne mogą się krzyżować. Tym bardziej należałoby odnieść się do powszechnie znanego mechanizmu i uzasadnić swój wybór przedmiotu badań. Omówienie szerszego kontekstu własnego kierunku badawczego podniosłoby ocenę znajomości tematu przez Doktorantkę. Proszę odnieść się do podniesionej przeze mnie kwestii podczas obrony.

Innym, istotnym w mojej opinii niedostatkiem rozprawy, jest brak hipotezy roboczej projektu, a także hipotez cząstkowych dla poszczególnych prac, za wyjątkiem ostatniej, przyjętej właśnie do druku (choć i w tym przypadku hipoteza jest dość miąka i raczej wymuszona wymogami formalnymi pisma, do którego skierowano artykuł). Przyjmuje się, że w naukach przyrodniczych wszystkie badania stanowią weryfikację z góry przyjętych hipotez. W przeciwnym razie mamy do czynienia jedynie z prostymi obserwacjami i ich opisem, a obserwowane związki między zjawiskami są w najlepszym razie korelacjami, a nie związkami przyczynowo-skutkowymi. Dotyczy to zarówno prostych analiz wzrostu, jak i zaawansowanych badań z użyciem technik wielkoprzepustowych. Umiejętność tworzenia hipotez oraz konstruowania eksperymentów do ich weryfikacji ma też wymiar praktyczny: jest to wymagane przy składaniu wniosków grantowych. Podczas obrony proszę przedstawić hipotezę roboczą całego projektu.

Podsumowanie

Mimo podniesionych przeze mnie niedociągnięć pracy oceniam ją bardzo wysoko, zarówno ze względu na nowatorskie osiągnięcia odnośnie mechanizmów tolerancji deficytu wodnego przez rośliny, jak i nowoczesną formę rozprawy. Na uwagę zasługuje oryginalne i wieloaspektowe podejście Autorki recenzowanej pracy do problemu. Doktorantka wykazała się wysokim poziomem wiedzy teoretycznej, zdolnością opanowania różnych technik laboratoryjnych, zmysłem analitycznym potrzebnym do opanowania dużej liczby danych empirycznych oraz umiejętnością syntezy naukowej. Szczególnie ważnym osiągnięciem Autorki jest określenie zmian w modyfikacjach potranslacyjnych białek pod wpływem stresu. Przedstawiona do oceny rozprawa spełnia też wszystkie kryteria formalne wymagane dla dysertacji doktorskiej. Wnioskuje więc o dopuszczenie mgr Marty Gietler do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na inwencję badawczą Autorki, wartość merytoryczną pracy, a w szczególności przedstawienie rozprawy w formie zestawu prac opublikowanych w znaczących pismach naukowych wnoszę o jej wyróżnienie.

Warszawa, 7.02.2017

prof. dr hab. Paweł Sowiński

