

dr hab. Tomasz Leski, prof. ID PAN
Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk
ul. Parkowa 5
62-035 Kórnik

Kórnik, 15.10.2020 r.

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Thiem
pt. „**Mikrobiom korzeni *Alnus glutinosa* Gaertn. w warunkach stresu solnego**”

wykonanej w Katedrze Mikrobiologii Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Hrynkiewicz (promotor)
i dr. hab. Marcina Gołębińskiego (promotor pomocniczy)

Olsza czarna, będąca podstawowym obiektem badawczym w ocenianej rozprawie doktorskiej, pomimo stosunkowo niewielkiego udziału w powierzchni leśnej Polski, jest cennym gatunkiem lasotwórczym, nie tylko ze względów ekonomicznych, ale przede wszystkim ekologicznych. Najlepiej rośnie na glebach wilgotnych i żyznych, często na terenach zalewowych, stanowiąc niezwykle istotny element leśnych zespołów łągowych. Jednak dzięki dość znacznej plastyczności w odniesieniu do warunków środowiskowych, spotkać ją można również w innych zbiorowiskach leśnych. Z kolei, jej znaczna odporność na niekorzystne warunki glebowe sprawia, że olsza czarna jest często wykorzystywana do rekultywacji i zalesień hałd przemysłowych, wysypisk i innych terenów trudnych do odnowienia. Jest jeszcze jedna cecha, która wyróżnia olszę czarną (jak i pozostałe gatunki z tego rodzaju) spośród innych drzew leśnych. Jest to zdolność nawiązywania związków symbiotycznych nie z jednym partnerem, jak to ma miejsce w przypadku większości drzew, ale równocześnie z trzema: promieniowcami z rodzaju *Frankia*, grzybami arbuskularnymi i grzybami ektomykoryzowymi. Z tego też względu drzewa z rodzaju *Alnus* wydają się być bardzo interesującym obiektem w zakresie badań interakcji drzewo-symbionty korzeniowe, zwłaszcza w odniesieniu do wpływu niekorzystnych warunków środowiskowych. Pomimo prowadzonych od szeregu lat intensywnych badań nad różnymi aspektami natury i funkcjonowania związków symbiotycznych roślin z różnymi mikroorganizmami, nadal nasza wiedza w tym zakresie pozostaje niepełna i przed światem naukowym stoi niewątpliwie szereg nowych, interesujących wyzwań. Stąd podjęcie przez Panią mgr D. Thiem badań podsumowanych w ocenianej rozprawie doktorskiej należy uznać za niezwykle istotne i oryginalne, w znacznym stopniu poszerzające naszą wiedzę, jak również mogące być inspiracją dla innych badaczy.

Rozprawa doktorska Pani mgr D. Thiem oparta jest na trzech artykułach naukowych opublikowane w latach 2017-2020 w czasopismach indeksowanych w bazie JCR: *Symbiosis*,

Frontiers in Microbiology i *Dendrobiology*. Łączny Impact Factor cyklu prac wynosi 7,033. Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich tych artykułach. Szkoda jedynie, że w żadnej z nich nie jest autorem korespondującym. Udział mgr D. Thiem w powstawaniu poszczególnych prac, potwierdzony przez współautorów, został oszacowany odpowiednio na 70, 50 i 60%, był więc znaczący w każdym wypadku. Podstawą rozprawy są publikacje wieloautorskie, nie należy tego jednak w mojej ocenie uznawać za coś negatywnego. Wręcz przeciwnie, uważam, że jest wielką sztuką, zwłaszcza w przypadku osoby dopiero rozpoczynającej karierę, zaprosić do współpracy osoby o ugruntowanej pozycji naukowej. W tym miejscu należy również podkreślić, że wszystkie przedstawione publikacje są efektem realizacji projektu badawczego PRELUDIUM finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, którego kierownikiem była Pani Dominika.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest opracowaniem zawierającym niemal wszystkie elementy standardowo pojawiające się w klasycznych rozprawach doktorskich. Rozpoczyna się od krótkiego streszczenia w języku polskim i angielskim, po którym następuje wstęp, nakreślany jest cel badań oraz hipotezy badawcze, opis materiału i metod. W następnym rozdziale doktorantka zwięźle podsumowuje uzyskane wyniki zaprezentowane w trzech publikacjach, które wraz z załącznikami stanowią kolejny rozdział rozprawy. Pracę zamykają dyskusja, wnioski i podsumowanie oraz spis literatury. Istotnym uzupełnieniem jest również zamieszczenie numerów sekwencji zdeponowanych w bazie NCBI. Wszystkie wymienione części mieszczą się na 129 stronach maszynopisu. W większości rozdziałów wydzielono liczne, trafne z merytorycznego punktu widzenia podrozdziały. W rozprawie daje się zauważyć brak typowego przeglądu literatury, który pojawia się w części rozpraw doktorskich. Jego miejsce zajmuje obszerny wstęp, zawierający zwięźle przedstawione informacje dotyczące ekologii olszy czarnej, jej związków symbiotycznych z mikroorganizmami glebowymi, oraz wpływu zasolenia na bakteryjne i grzybowe mikrobiomy roślin. Zaprezentowane w kolejnych dwóch rozdziałach cele pracy i hipotezy badawcze zostały przez Autorkę w sposób logiczny powiązane, wskazując, że cały cykl badań był przemyślany i dokładnie zaplanowany. Wysunięte hipotezy badawcze, zwłaszcza hipoteza 1 i 2 są w moim przekonaniu sformułowane w sposób dość ogólny, wręcz bezpieczny. Dysponując danymi literaturowymi i własnym doświadczeniem naukowym można było się pokusić o ich pogłębienie poprzez określenie kierunku wpływu zasolenia na mikrobiom korzeniowy olszy czy też sprecyzowanie oczekiwanych zależności pomiędzy mikroorganizmami symbiotycznymi i endofitycznymi.

Mogłoby się wydawać, że Pani mgr D. Thiem miała ułatwione zadanie przygotowując Wstęp, nakreślając cele i hipotezy badawcze, ponieważ przygotowując manuskrypty publikacji napisała już wcześniej trzy odrębne wstępy i sformułowała hipotezy. Należy jednak pamiętać, jak wielkim wyzwaniem jest przedstawić coś w sposób zwięzły, a zarazem klarowny, unikając przy tym zbędnych powtórzeń i bezpośrednich zapożyczeń. W mojej opinii Autorka wywiązała się z tego zadania bardzo dobrze.

Mając na uwadze fakt, że trzy prace stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej zostały już wcześniej ocenione przez przynajmniej sześciu niezależnych i anonimowych recenzentów oraz zaakceptowane przez redaktorów czasopism moje zadanie w kwestii oceny wartości merytorycznej uzyskanych wyników jest niewątpliwie ułatwione. Doktorantce udało się w przejrzysty sposób zaprezentować w skróconej formie wszystkie wyniki opublikowane w poszczególnych pracach, a następnie zaprezentować wspólną, spójną dyskusję tych wyników. Dwie pierwsze publikacje nawiązują bezpośrednio do tytułu rozprawy doktorskiej. Początkowo byłem zaskoczony trzecią pracą, która z pozoru nie wiąże się bezpośrednio z tytułem rozprawy. Jednak po głębszym zastanowieniu się doszedłem do wniosku, że uwzględnienie tematyki poruszanej w tej pracy w tytule rozprawy spowodowałoby, że musiałby być on zdecydowanie rozbudowany.

Przedstawiona do oceny rozprawa wnosi niewątpliwie wiele cennych i nowych informacji na temat szeroko pojętego mikrobiomu korzeniowego olszy czarnej poddanego stresowi związanego z zasoleniem gleby. Zwłaszcza wyniki zaprezentowane w dwóch pierwszych pracach mają szczególne znaczenie. Opierają się bowiem na analizie próbek środowiskowych. Jak wiemy badania takie są zdecydowanie trudniejsze od badań laboratoryjnych, pozwalają jednak uwzględnić kompleks czynników środowiskowych. Nawet w najlepiej zaplanowanych doświadczeniach laboratoryjnych nie jesteśmy w stanie wiernie odtworzyć natury.

Do najważniejszych osiągnięć rozprawy doktorskiej Pani mgr D. Thiem należy zaliczyć:

- wykazanie, że zasolenie jest decydującym czynnikiem kształtującym strukturę mikrobiomu korzeniowego olszy czarnej, wpływając na zmniejszenie różnorodności endofitów bakteryjnych przy równoczesnym zwiększeniu różnorodności endofitów grzybowych,
- wykazanie, że zasolenie jest czynnikiem selekcyjnym mikroorganizmy w kierunku przystosowanych do wzrostu w takich warunkach oraz potencjalnie promujących wzrost roślin w warunkach stresu solnego,
- wykazanie, że grzyby ektomykoryzowe pochodzące ze stanowiska zasolonego odznaczają się niższą zdolnością do syntezy enzymów hydrolitycznych i wykazują niższą wrażliwość na NaCl niż analizowany grzyb saprofityczny.

W trakcie czytania pracy zrodziło się u mnie kilka pytań/wątpliwości, co do, których chciałbym poznać stanowisko doktorantki. Być może odpowiedzi na te pytania zostały już udzielone w trakcie przygotowywania odpowiedzi na recenzje do poszczególnych artykułów stanowiących podstawę rozprawy. W pierwszej pracy autorka opisuje różnorodność zbiorowisk grzybów ektomykoryzowych i endofitycznych związanych z olszą rosnącą na stanowisku zasolonym. Czy nie byłoby dobrze, aby wyniki te zostały skonfrontowane z danymi uzyskanymi również dla stanowiska kontrolnego (przy zachowaniu tej samej metodyki badań). Być może, z jakichś względów nie było to możliwe na tym etapie badań. Z kolei badania opisane w pracy opublikowanej w czasopiśmie *Frontiers in Microbiology*

wykonane zostały z uwzględnieniem jednej powierzchni zasolonej i jednej kontrolnej. Uwzględnienie większej liczby powierzchni, pozwoliłoby nie tylko na opisanie i scharakteryzowanie mikrobiomów obecnych w tych konkretnych miejscach, ale być może na wysunięcie szerszych wniosków. Dopiero uwzględnienie danych pochodzących z kilku miejsc pozwala nam na stwierdzenie, czy obserwowane różnice są pewną normą, czy też cechą danego miejsca. Podobnie zastanawia mnie, dlaczego w doświadczeniu laboratoryjnym opisanym w ostatniej pracy wykorzystano tylko po jednym szczepie konkretnego gatunku grzyba, oraz dlaczego nie wykorzystano również szczepów pochodzących z terenu kontrolnego.

Podczas lektury rozprawy nasunęło mi się również kilka uwag o charakterze edytorskim, które zazaczyłem w manuskrypcie pracy. W tym miejscu pozwolę sobie wymienić tu tylko te najważniejsze:

- w tytule rozprawy zamieszczonym na okładce brakuje słowa „korzeni”, co może sugerować, że praca omawia całkowity mikrobiom olszy czarnej;
- w swojej rozprawie pani mgr D. Thiem konsekwentnie używa terminu „trójczynnikowa symbioza” w odniesieniu do związku korzeni olszy z grzybami ektomykoryzowymi, arbuskularnymi i promieniowcami z rodzaju *Frankia*. Nie wydaje mi się, aby używanie określenia „czynniki” w stosunku do symbiontycznych mikroorganizmów było właściwe. Zdaję sobie jednak sprawę, że w języku polskim czasami trudniej jest wyrazić skrótowo pewne kwestie, niż w języku angielskim. Być może trafniejsze byłoby tu określenie „trójelementowa symbioza”, a właściwie „czteroelementowa” jeśliby uwzględnić jeszcze partnera roślinnego;
- w kilku miejscach rozprawy brakuje konsekwencji w używaniu terminów „endofit” i „symbiont”. Nie zawsze można traktować te terminy jako synonimy.

Przytoczone uwagi i pytania, jak również drobne usterki redakcyjne nie podważają wysokiej wartości pracy. Szeroki zakres zastosowanych metod badawczych, jak również technik statystycznych wykorzystanych do analizy uzyskanych wyników świadczą o dojrzałości naukowej Autorki. Niewątpliwie można stwierdzić, że w osobie Pani mgr Dominiki Thiem nauka polska zyskuje młodego, utalentowanego, a przede wszystkim pełnego pasji badacza, przygotowanego do prowadzenia samodzielnych badań.

Podsumowując i biorąc pod uwagę wysoką jakość wykonanych badań stwierdzam, że przedłożona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w **art. 13 ust. z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki** (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.). Zwracam się do Rady Naukowej w dyscyplinie Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Dominiki Thiem do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Tomasz Leski