

Prof. dr hab. Katarzyna Turnau
Instytut Nauk o Środowisku
Uniwersytetu Jagiellońskiego

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Jagienki Stach

pt. „Czynniki glebowe w infekcji trawy mannicy odstającej (*Puccinellia dystans*)
endofitycznym grzybem *Epichloe typhina*: określenie ich roli z zastosowaniem analiz
przestrzennych”

Przedstawiona do recenzji rozprawa ma rozmiary imponujące, jak na pracę przyrodniczą: liczy 293 strony, w tym 359 pozycji cytowanej literatury, 21 źródeł internetowych, 12 fotografii, 66 tabel i ponad 200 rycin, w tym schematy wykonane przez Autorkę.

Praca ściśle wiąże się z głównym nurtem badań Promotora Dr hab. Marleny Lembicz i dotyczy występowania endofita traw *Epichloe typhina* oraz siedliskowych uwarunkowań. Doktorantka podjęła się bardzo ambitnego zagadnienia ponieważ układy w terenie są zazwyczaj bardzo skomplikowane, a do tego nakłada się tu komplikacja związana z samym obiektem badań, o którym pomimo wielu lat pracy dużej grupy badaczy, tak naprawdę nadal niewiele wiemy. Co więcej, nasz obraz środowiska wraz z postępem wiedzy komplikuje się znacznie. Jeszcze do niedawna mało kto zdawał sobie sprawę z faktu, że roślina pozbawiona widocznych gołym okiem pasożytów jest zawsze narażona na różnorakie interakcje. Jej samodzielność uzyskiwana dzięki fotosyntezie jest tylko pozorem. Powszechne jest

występowanie grzybów mykoryzowych i do tego faktu wszyscy się już przyzwyczaili. W ostatnich latach zwiększa się ilość doniesień na temat endofitów bakteryjnych i grzybowych bezobjawowo rezydujących w tkankach roślin. Wiemy już dziś, że pokonują one bariery ścian komórkowych niekoniecznie za pomocą własnych enzymów lecz wręcz enzymów roślinnych, które same otwierają im wrota po to aby korzystać najpierw z metabolitów endofitowych aż w końcu pożytkują tracące żywotność mikroby dla swoich celów jako źródło nutrientów (prace White, Pilar Prieto, Longhienne i innych). Po raz kolejny spotyka nas zaskoczenie podobnie jak w przypadku naszego własnego organizmu, który nosi około 2.5 kg mikroobów, od których zależy nasze zdrowie, 10 razy więcej mikroobów niż naszych własnych komórek. Chociaż nikt nie zrobił takiej kalkulacji w przypadku mannicy to należy się spodziewać podobnych układów. Znając tak daleką komplikację tych układów należy uznać i docenić odwagę Autorki i podjęcie badań terenowych. Celem tych badań było stwierdzenie czy czynniki glebowe takie jak wilgotność, przewodnictwo elektrolityczne (określające stopień zasolenia) oraz odczyn gleby sprzyjają kolonizacji przez grzyby endofityczne *Epichloe* oraz jaka jest relacja tej infekcji z biomasą roślin. Bardzo dobrze, że ograniczono się do wybranych czynników, bo należy realistycznie podchodzić do wykonalności badań. Widzę tu dalsze możliwości prowadzenia badań w kierunku ustalenia interakcji traw z mikroorganizmami ryzosfery i korzeni. Na kilka pokoleń wystarczy pracy.

Teren badań został znakomicie wybrany. Bazuje na obszarze dobrze już poznanym przez Promotorkę pracy. Określono współrzędne metodą RTK GPS i wykonano zdjęcia lotnicze, którym niewiele brakuje do wykonywanych obecnie coraz częściej badań botanicznych, terenowych za pomocą dronów. Zbadano obecność endofitów i oceniono wielkość biomasy, liczbę pędów wegetatywnych i generatywnych traw. Wykonano całą gamę testów statystycznych.

Praca została wykonana ze znaczną znajomością metod, znakomicie i precyzyjnie zilustrowana i przedyskutowana. Ważnym i nowatorskim elementem wykonanej pracy było użycie metod geostatystycznych dla sprawdzenia prawidłowości rozkładu przestrzennego analizowanych parametrów glebowych, występowania okazów mannicy i ich statusu infekcji i kondycji. Szkoda, że nie uwzględniono tu metod fluorescencji chlorofilu lub badań w podczerwieni. Użyto natomiast obliczania modelowania matematycznego parametrów autokorelacji przestrzennej – metod, które tylko niewielu botaników potrafi zastosować lub

ocenić. Wyniki badań może nie brzmiały jeszcze zbyt odkrywco, ale stanowią istotny krok w kierunku poznania ekologii badanego układu. Nie ma wątpliwości, że rozmieszczenie przestrzenne okazów mannicy i jej status infekcji wykazuje autokorelację przestrzenną. Nie we wszystkich przypadkach przeprowadzonych analiz uzyskano różnice statystycznie istotne i nie dotyczy to wszystkich badanych stanowisk. Tu widać olbrzymią komplikację tych układów. Posiadając jednak uzyskane wyniki można będzie skupić się w przyszłości na wybranych elementach. Z tego powodu uważam, że założone przez Doktorantkę cele zostały w pełni osiągnięte.

Na podkreślenie zasługuje znakomicie napisany, w sposób wciągający czytelnika, wstęp. Dotyczy on historii badań endofitów. Autorka zwraca uwagę na istotny przełom w badaniach, którego dokonano na przełomie XX i XXI wieku, w odniesieniu do mechanizmów oddziaływania endofitów na ssaki. Ta część zdecydowanie powinna być wykorzystana w artykule popularno-naukowym.

Wyniki badań zawarte w rozprawie z pewnością powinny zostać opublikowane.


Przy tak obszernej pracy nie było możliwości uniknięcia drobnych błędów, które wymieniono poniżej:

1. Pomimo, że Autorka bardzo skrupulatnie cytuje prace, nie jestem przekonana czy konieczne jest podkreślanie na pierwszym miejscu swoich niepublikowanych danych przed cytacjami z roku 2007 – np. str. 17.
2. Co oznacza „glebowa flora bakteryjna” – chodzi o florę czy o bakterie?
3. Cytacja 9 budzi zaniepokojenie ponieważ cytacja stosuje się po to aby można było dojść do źródła informacji; w tym wypadku jednak informacja jest zbyt niedokładna.
4. Na str. 22 ponownie zastosowano termin „flora”, tym razem jelitowa. Poza tym stwierdzenie jest trudne do udowodnienia, bo zwierzęta, nie tylko przeżuwacze, mają bogatą mikrobiotę jelitową.
5. W kilku przypadkach zbyt późno cytowane są prace źródłowe. Utrudnia to odszukanie informacji – przykład str. 23 dolny akapit, str. 27 górny akapit.
6. Pomimo bardzo dokładnej metodyki dotyczącej badań glebowych stosunkowo słabo opisano przygotowanie prób do mikroskopii; spodziewałabym się przynajmniej równie dokładnego opisu jak w pozostałych przypadkach.

7. Na str. 66 i 67 w metodyce umieszczono szereg uwag o wpływie czynników abiotycznych i biotycznych na wzrost i rozwój roślin. Moim zdaniem tego typu informacje raczej pasują albo do wstępu albo do dyskusji, łącznie z zamieszczonymi w tym przypadku cytatami.

Z przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr. Aleksandry Stach pt. „Czynniki glebowe w infekcji trawy mannicy odstającej (*Puccinellia dystans*) endofitycznym grzybem *Epichloe typhina*: określenie ich roli z zastosowaniem analiz przestrzennych” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. W swojej pracy mgr Stach wykazała się bardzo dobrą znajomością literatury, umiejętnością planowania i prowadzenia badań naukowych, znajomością metod statystycznych, krytycyzmem w interpretacji wyników i wnioskowaniu, biegłością warsztatową zarówno w badaniach terenowych jak i laboratoryjnych. Biorąc to wszystko pod uwagę, wnoszę o dopuszczenia mgr Aleksandry Stach do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, dn. 10. listopada 2014



Prof. dr hab. Katarzyna Turnau