



RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Izbiańskiej
pt. Funkcje nadtlenoazotynu w odporności liści ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.)
na *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Karoliny Izbiańskiej została wykonana w Zakładzie Ekofizjologii Roślin na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kierunkiem Pani Profesor UAM dr hab. Magdaleny Arasimowicz-Jelonek. Rolę promotora pomocniczego w tym przewodzie pełni dr hab. Jarosław Gzyl. Rozprawę stanowi zestaw trzech spójnych tematycznie prac, opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych w latach 2016-2018, o sumarycznym współczynniku oddziaływania wynoszącym niemal 9. Poniżej przedstawiłam dane bibliometryczne tych artykułów podane przez doktorantkę a uzupełnione przeze mnie o wskaźniki cytowalności wg bazy Web of Science Core Collection aktualne w momencie sporządzania recenzji.

Publikacja 1. cytowana 6 razy

Floryszak-Wieczorek J., Arasimowicz-Jelonek M., Izbiańska K. (2016) The combined nitrate reductase and nitrite-dependent route of NO synthesis in potato immunity to *Phytophthora infestans*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 108: 468–477 (IF=2,928; 35 pkt MNiSW).

Publikacja 2. cytowana 4 razy

Arasimowicz-Jelonek M., Floryszak-Wieczorek J., Izbiańska K., Gzyl J., Jelonek T. (2016) Implication of peroxynitrite in defence responses of potato to *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology*, 65: 754–766 (IF=2,383; 35 pkt MNiSW).

Publikacja 3. cytowana 0 razy

Izbiańska K., Floryszak-Wieczorek J., Gajewska J., Meller B., Kuźnicki D., Arasimowicz-Jelonek M. (2018) RNA and mRNA nitration as a novel metabolic link in potato immune response to *Phytophthora infestans*. *Frontiers in Plant Science*, 9: 672 (IF=3,678; 40 pkt MNiSW).

Oprócz publikacji, rozprawę tworzą także streszczenia w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, kilkustronicowe omówienie wyników, wnioski, podsumowanie, literatura, oświadczenia współautorów oraz wykaz pozostałych osiągnięć doktorantki.

Tematyka opublikowanych prac dotyczy syntezy i funkcji pochodnych tlenu azotu w odpowiedzi roślin ziemniaka na infekcję *Phytophthora infestans*. Autorom udało się uzyskać wiele interesujących wyników, które:

- wskazują na fundamentalną rolę reduktazy azotanowej w biosyntezie tlenu azotu w liściach ziemniaka;
- opisują kinetykę formowania się nadtlenoazotynu w przebiegu reakcji odpornościowej oraz podczas procesów chorobowych oraz
- ujawniają powstałe w konsekwencji modyfikacje białek i kwasów nukleinowych.

Osobiście brakuje mi trochę w omówieniu ujęcia uzyskanych wyników w szerszym kontekście, dlatego przy okazji chciałabym poprosić doktorantkę aby podczas obrony rozprawy wpisała odkryte przez nią zależności w sieć sygnałną obejmującą inne reaktywne cząsteczki w tym pochodne tlenu, H₂S czy HCN.

Artykuły przed publikacją były recenzowane przez ekspertów dlatego też, pominię ich ocenę merytoryczną. Stawia mnie to w trudnej sytuacji jako recenzenta rozprawy, ponieważ kluczowy dla mojej oceny, powinien być wkład doktorantki w realizację konkretnych zadań. Jednak część rozprawy obejmująca oświadczenia współautorów została, moim zdaniem, przygotowana mało uważnie i dość niefrasobliwie:

- w przypadku jednej publikacji udziały nie sumują się do 100% (publikacja numer 2, udział wszystkich współautorów, jeśli dobrze liczę wynosi 95%),
- wkład procentowy nie odzwierciedla pozycji w publikacji – przykładowo dwie pierwsze autorki mają przypisane po 20% (w publikacji nie wspomniano o ich równym udziale), podczas gdy doktorantka na trzeciej i bynajmniej nie ostatniej pozycji deklaruje 40% udział (dotyczy także publikacji nr 2)
- w mojej ocenie, udział procentowy zawarty w oświadczeniach jest nieadekwatny do wkładu przedstawionego w opisie zadań, a co więcej informacje w dziale artykułów *Author Contributions* dotyczące wykonywanych przez doktorantkę zadań znacząco różnią się od listy zadań deklarowanych przez nią w oświadczeniu. Np. w publikacji numer 1 w notce pod artykułem napisane jest, że „*KI carried out the experiments concerning NR and NiR gene expression measurement.*”- podczas gdy doktorantka deklaruje, że prowadziła uprawy [rec. powinno być kultury] ziemniaka, przygotowywała zawiesiny zarodników *P. infestans*, przeprowadzała inokulację materiału roślinnego, zbierała materiał do analiz, brała udział w oznaczaniu poziomu tlenku azotu (NO), oznaczała aktywność reduktazy azotanowej (NR), wykonywała eksperyment z wykorzystaniem inhibitorów odpowiedzialnych za generowanie NO, izolowała RNA i analizowała ekspresję genów, brała udział w analizie statystycznej wyników.

-doktorantka wśród prac, które wykonała podaje szereg czynności, które *de facto* były niezbędne do przeprowadzenia konkretnego eksperymentu, natomiast trudno je nazwać osobnymi zadaniami np. przygotowanie zarodników *P. infestans* czy inokulacja materiału roślinnego.

Zdaję sobie jednak sprawę, że przypisanie udziałów poszczególnym autorów nie jest trywialne, a z mojej perspektywy i doświadczenia, jest w zasadzie niemożliwe bez podziału funkcji osobno w 3 kategoriach tj. i) merytorycznym zaplanowaniu eksperymentów i zdobyciu finansowania na badania, ii) przeprowadzeniu samych doświadczeń oraz w końcu udziału w iii) analizie i interpretacji wyników, przygotowaniu manuskryptu i odpowiedzi na zarzuty recenzentów. Dlatego też na przyszłość rekomendowałabym tego typu podział, bo znacznie lepiej odzwierciedla zaangażowanie poszczególnych współautorów.

Abstrahując od tych błędów formalnych przy przygotowaniu oświadczeń, znaczący wkład mgr Izbiańskiej w powstanie prezentowanych publikacji jest bezdyskusyjny. Szczególnie cenna dla rozwoju jej kariery naukowej jest praca nr 3, gdzie doktorantka jest pierwszą autorką i uczestniczyła we wszystkich etapach powstawania artykułu, zarówno w wykonaniu eksperymentów, w analizie wyników, jak również w pisaniu manuskryptu.

Przedstawione przez doktorantkę w rozprawie osiągnięcia oraz moja kwerenda w bazie Web of Science Core Collection wskazują, że mgr Karolina Izbiańska jest dotychczas współautorką 12 publikacji (i rozdziału w książce), cytowanych łącznie 80 razy (68 bez autocytowań) a indeks Hirscha dla jej dorobku wynosi 6 i choć współczynnik oddziaływania żadnej z prac nie przekroczył 4, to i tak uważam ten wynik za bardzo dobry a co szczególnie ważne świadczy on o dużym zainteresowaniu środowiska naukowego tymi badaniami.

Skrupulatna lektura rozprawy ujawniła, że części Wprowadzenie i Omówienie wyników obfitują w szereg nieścisłości i skrótów myślowych lub nie do końca uzasadnionych konkluzji. Doktorantka używa też wielu ogólników, których w pracach naukowych należy się bardzo wystrzegać. Przykładowo:

str 6.”sprzyja ograniczeniu kolonizacji tkanek rośliny-gospodarza przez patogen m.in. na drodze szybszej i bardziej efektywnej akumulacji mRNA dla *PR-1* oraz *PR-2*...” Proszę doktorantkę o wyjaśnienie, jak mRNA wpływa na ograniczenie kolonizacji tkanek przez patogen.

Na str. 11 doktorantka pisze dalej, że „Istotą odporności typu ETI jest aktywacja roślinnych genów odporności *R*,” podczas gdy aktywacji ulegają białka receptorowe *R*, które na skutek zmian konformacyjnych po wykryciu ligandu, uruchamiają odpowiedź obronną roślin. Wprawdzie często dochodzi również do zwiększenia poziomu transkryptów dla genów *R*, to bynajmniej ten proces nie stanowi istoty ETI.

Dalej na str 11 „*R*, są wewnątrzkomórkowymi receptorami specyficznymi oddziałującymi z produktami genów awirulencji patogenów.” I pytanie do doktorantki, co w tym zdaniu może wzbudzać wątpliwości recenzenta?

str. 14 „Wykorzystana w doświadczeniach odmiana podatna Bintje nie posiada *R*-genów odporności.” To zdanie jest równie prawdziwe, jak twierdzenie, że odmiana podatna Bintje nie posiada DNA. Pytanie do doktorantki, ile szacunkowo genów odporności zawiera genom ziemniaka?

str. 16 „wzmószona akumulacja ONOO⁻ , w odpowiedzi na *P. infestans*, była skorelowana w czasie z istotnym zwiększeniem ekspresji TPx u obu odmian [rec. tj. odpornej i wrażliwej] ziemniaka” podczas gdy w publikacji, do której odnosi się doktorantka napisano w Streszczeniu „The potato-avr *P. infestans* model system exhibited a transient programme of boosted ONOO⁻ formation correlated in time with the burst of nitric oxide (NO) and superoxide during the first 6 h post-inoculation (hpi). The early ONOO⁻ over-accumulation was not accompanied by TPx gene expression. In contrast, the compatible interaction revealed a 24 h delay of ONOO⁻ formation; however, an enhanced level of NO and superoxide correlated with TPx up-regulation was recorded within the earlier stages of pathogen infection” oraz w Wynikach “In the resistant response, a peak of TPx transcript accumulation was observed at 24 hpi, following the ONOO⁻ burst, whereas in the susceptible one, TPx expression reached the highest amount (c. 20-fold increase in comparison to mock-inoculated leaves) at 3 hpi, preceding ONOO⁻ overproduction.”

str. 20 „Natomiast wzrost puli nitrowanych białek odnotowany w kolejnych godzinach po inokulacji w odmianie podatnej, w połączeniu z nadprodukcją RFA, odzwierciedla stres nitro-oksydacyjny sprzyjający rozwojowi choroby.” Ten wniosek moim zdaniem jest zbyt daleko idący.

Zarówno tekst w języku polskim, jak też w angielskim zawiera drobne błędy stylistyczne czy niezręczności lingwistyczne.

Przykładem jest sformułowanie „poinfekcyjne blokowanie generowania tej molekuly” ze str. 15 czy na str. 11 „Ze względu na krótki czas półtrwania obu cząsteczek macierzystych (NO – 3-5 sekund; O₂⁻ – kilka milisekund), formowanie nadtlenoazotu wymaga równoczesnego tworzenia obu reagujących ze sobą rodników, obecnych w tych samych strukturach komórkowych.”

Chciałabym też zwrócić uwagę na powszechny błąd, którego nie uniknęła również doktorantka. Spójniki w języku polskim rozgraniczają dobrze koniunkcję (i), alternatywę (lub) oraz alternatywę wykluczającą (albo). Alternatywa (zdania połączone spójnikiem lub) jest prawdziwa, gdy przynajmniej jedno ze zdań jest prawdziwe, alternatywa wykluczająca gdy tylko jedno ze zdań jest prawdziwe a koniunkcja gdy oba. Nie ma zatem najmniejszej potrzeby, a w zasadzie nie ma też sensu, stosowanie w języku polskim kalki z angielskiego w postaci zbitki spójników i/lub.

Ponadto, doktorantka niekonsekwentnie posługuje się terminami naukowymi- w tak krótkim tekście używane są np. trzy formy zapisu dla genów odporności tj. *R*-geny, geny *R* oraz *R* geny a w tekście angielskim stosowana jest pisownia i brytyjska i amerykańska.

Podsumowując, o ile od strony merytorycznej, przedłożony zbiór artykułów wraz z omówieniem oceniam wysoko a dotychczasowy dorobek naukowy doktorantki uważam za nietuzinkowy, to pewne moje wątpliwości budzi formalna strona opracowania. Przytoczone przeze mnie wcześniej przykłady pozwalają mi na konstatację, że rozprawę przygotowano z pewną nonszalancją wywołującą wrażenie, że strona formalna jest drugorzędna. Tymczasem, w przypadku doktoratu w formie zbioru artykułów wykonanie rzetelnej recenzji, a w szczególności ocena, udziału kandydata do stopnia naukowego w badaniach czy ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, w znacznym stopniu zależy od sposobu, w jaki napisano rozprawę i jak sporządzono oświadczenia.

Biorąc jednak pod uwagę wypełnienie w mojej opinii wszystkich ustawowych wymogów oraz bezsprzecznie znaczący wkład doktorantki w powstanie artykułów tworzących tę rozprawę, zwracam się do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Karoliny Izbiańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. Magdalena Krzymowska, prof. IBB

Warszawa, 12.II.2019