



Warszawa, 16.04. 2024 r.

Prof. dr hab. Agnieszka Gniazdowska-Piekarska,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Instytut Biologii
Katedra Fizjologii Roślin
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
e-mail: agnieszka_gniazdowska@sggw.edu.pl,

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr **Andželiki Drozdy**

pt. „**Udział tlenu azotu w epigenetycznej regulacji odporności ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) na *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary**”

wykonanej w Katedrze Fizjologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
pod kierunkiem prof. dr hab. **Jolanty Floryszak-Wieczorek**

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską stanowią dwa spójne tematycznie artykuły naukowe. Prace zostały opublikowane w 2022 roku w czasopismach: *International Journal of Molecular Sciences* oraz *Frontiers in Plant Sciences*. Obie prace ukazały się w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR), o łącznym współczynniku wpływu IF: 11,20 oraz sumie punktów wynoszącej 240 wg listy MN z dnia 5 stycznia 2024 roku.

W skład omawianego cyklu wchodzi następujące prace:

1. **Drozda, A., Kurpisz, B., Arasimowicz-Jelonek, M., Kuźnicki, D., Jagodzik, P., Guan, Y., Floryszak-Wieczorek, J., 2022.** Nitric oxide implication in potato immunity to *Phytophthora infestans* via modifications of histone H3/H4 methylation patterns on defense genes. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 4051. (IF:5,60)
2. **Drozda, A., Kurpisz, B., Guan, Y., Arasimowicz-Jelonek, M., Plich, J., Jagodzik, P., Kuźnicki, D., Floryszak-Wieczorek, J., 2022.** Insights into the expression of DNA (de)methylation genes responsive to nitric oxide signaling in potato resistance to late blight disease. *Front. Plant Sci.* 13. (IF:5,60)

Rozprawa doktorska mgr **Andželiki Drozdy** była finansowana w ramach projektu OPUS13 NCN (2017/25/B/NZ9/00905) pt. „Tlenek azotu jako epigenetyczny mediator odporności ziemniaka typu ETI” przyznanego na lata 2018-2023 Pani Promotor prof. dr hab. Jolancie Floryszak-Wieczorek.

Prace stanowiące rozprawę doktorską dotyczą modyfikacji epigenetycznych obserwowanych podczas infekcji roślin ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) patogenicznym lęgniowcem *Phytophthora infestans*, które wiążą się ze zmianą emisji tlenu azotu (NO) w infekowanych tkankach gospodarza.

prof. dr hab. Agnieszka Gniazdowska-Piekarska
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Instytut Biologii, Katedra Fizjologii Roślin
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
+48 22 59 325 10, +48 22 593 25 00
agnieszka_gniazdowska@sggw.edu.pl



Doktorantka podjęła się (1) wyjaśnienia związku pomiędzy odpornością ziemniaka na zarazę z okresowym obniżeniem poziomu NO (po infekcji patogenem) i z ekspresją genów strategii obronnej oraz zmianą wzorca metylacji histonów H3/H4. Następnie (2) analizowała wpływ NO na ekspresję genów regulujących proces (de)metylacji DNA w kontekście regulacji ekspresji R-genów oraz genów strategii obronnej. Wkład mgr Andżeliki Drozdy w powstanie ww. artykułów jest dominujący i wynosi według szacunków doktorantki 54% - w publikacji nr 1 opublikowanej w *International Journal of Molecular Sciences*, 56% w publikacji nr 2, która ukazała się we *Frontiers in Plant Science*. Jak wynika z oświadczeń, udział mgr Andżeliki Drozdy w przedstawionych jako praca doktorska publikacjach eksperymentalnych polegał na: prowadzeniu kultury materiału badawczego (ziemniaka i patogenu), wykonaniu znacznej większości analiz laboratoryjnych (w szczególności oznaczeń ekspresji genów i aktywności białek, oraz metylacji DNA), udziale we pozostałych badaniach laboratoryjnych, opracowaniu statystycznym części wyników, interpretacji części wyników oraz uczestnictwie w przygotowaniu manuskryptów. Do rozprawy zostały załączone oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład rozprawy, określające procentowy wkład każdego z nich wynoszący od 2% do 25%. Przedstawione oświadczenia są wyczerpujące i nie budzące wątpliwości, dzięki czemu stanowiły podstawę uznania przeze mnie zaprezentowanego materiału jako rozprawy doktorskiej.

Prace stanowiące rozprawę doktorską zostały opublikowane niecałe 2 lata temu, pierwsza z nich ma 4 cytowania, druga na razie 1 cytowanie (dane wg bazy Scopus, kwiecień 2024). Artykuły wchodzące w skład dysertacji są w wolnym dostępie (*open access*), a czasopisma, w których zostały opublikowane cieszą się dobrą opinią, można się zatem spodziewać licznych cytowań w przyszłości.

Rozprawa doktorska, której podstawą są wyżej wymienione artykuły została zatytułowana „Udział tlenu azotu w epigenetycznej regulacji odporności ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) na *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary”. Obejmuje ona streszczenia w języku polskim i angielskim oraz została uzupełniona komentarzem liczącym 63 strony, napisanym w języku polskim, w którym Doktorantka wyjaśnia problem badawczy podjęty w publikacjach, przedstawia zastosowane materiały i metody oraz omawia i podsumowuje najważniejsze wyniki i formułuje wnioski płynące z tych danych. Rozdział pierwszy wspomnianego komentarza to *Wprowadzenie* zawierające przegląd piśmiennictwa, zakończone sformułowaniem *Hipotezy badawczej* i *Celu* prowadzonych badań. Kolejne podrozdziały zawierają *Materiały i Metody*, *Zadania Badawcze*, *Wyniki* i *Ich Omówienie*, *Dyskusję*, *Wnioski* z *Podsumowaniem* oraz spis literatury zawierający 163 pozycje (prawie wszystkie anglojęzyczne, w ogromnej większości z ostatnich 15 lat). Doktorantka niestety nie umieściła w komentarzu w j. polskim spisu stosowanych



skrótów, co uważam za istotny mankament. W pracy jest wiele skrótów, przy czym nie są to skróty powszechnie znane, dlatego brak takiego spisu bardzo utrudniał mi czytanie pracy (w rezultacie musiałam sama taki spis sporządzić). Spis stosowanych skrótów jest co prawda umieszczony w pracy nr 1, ale jest on z oczywistych względów w j. angielskim i nie obejmuje wszystkich użytych w komentarzu skrótów. Autorka zamieściła także Aneks, zawierający listę odczynników używanych jako donory i zmiatacze NO i nadtlenoazotynu (ONOO⁻), ryciny uzupełniające zawierające wyniki wpływu GSNO, cPTIO na metylację w liściach ziemniaka TG97-411, profil ekspresji *Rpi-phu1* po podaniu GSNO i infekcji *P.infestans* oraz ekspresję genów analizowanych w pracy po podaniu GSH. Jest to część suplementów do publikacji nr 2, które nie zostały włączone do dysertacji. (Moim zdaniem do publikacji stanowiącej część rozprawy powinny być załączone wszystkie suplementy nawet wówczas gdy można je łatwo uzyskać ze strony czasopisma). W dysertacji nie umieszczono także suplementu do publikacji nr 1, chociaż rycina z tego suplementu została uwzględniona w komentarzu jako Rycina 9 (str. 31). Dodatkowo autorka umieściła w dysertacji wykaz swojego dotychczasowego dorobku naukowego.

Pomijając niedogodność wynikającą z braku spisu stosowanych skrótów oraz brak 4 (niezbyt istotnych) spośród 7 suplementów pracy nr 2, oraz suplementu do publikacji nr 1 praca zawiera wszystkie elementy wymagane dla pracy doktorskiej z dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo, wobec czego stwierdzam, że kryteria formalne stawiane rozprawie doktorskiej zostały w pełni spełnione.

Poza pracami które stanowią przedmiot dysertacji doktorskiej, Doktorantka w dorobku naukowym posiada jedną pracę opublikowaną w 2019 roku w czasopiśmie *Frontiers in Plant Science* oraz 7 doniesień naukowych na konferencjach zagranicznych i krajowych. Uważam zatem, że dorobek naukowy Kandydatki jest wystarczający.

Ocena merytoryczna

Obie prace wchodzące w skład rozprawy uzyskały pozytywną ocenę recenzentów, a także redaktorów dobrych czasopism z zakresu Plant Science. Jednak z powinności recenzenta odniosę się do najważniejszych osiągnięć oraz ich syntetycznego omówienia w przedstawionej rozprawie. Prace prowadzone w ramach niniejszej dysertacji są kontynuacją badań nad rolą NO w reakcji roślin na stres biotyczny wywołany obecnością patogenów prowadzonych od lat przez Panią Promotor prof. dr hab. Jolantę Floryszak-Wieczorek. Podjęcie zagadnienia udziału NO w epigenetycznej regulacji odporności roślin na infekcję *P. infestans* uważam za bardzo cenne, gdyż w takim kontekście mechanizmu działania NO był poruszany w literaturze sporadycznie, w ostatnich latach tylko przez jeden zespół badawczy na świecie,



wobec czego wiedza na ten temat jest mniej niż fragmentaryczna. Uważam ponadto, że wyniki tej pracy doktorskiej mogą mieć znaczenie w programach hodowlanych skierowanych na uzyskanie odmian roślin uprawnych mniej podatnych na patogeny, w tym przypadku zarazę ziemniaka, która wywołuje ogromne szkody.

W pracy nr 1 potwierdzono raportowany we wcześniejszych doniesieniach dwufazowy wzrost emisji NO w liściach ziemniaka odmiany odpornej na patogen, po infekcji *P. infestans*, z charakterystycznym obniżeniem emisji NO w 6 godz. po inokulacji. To okresowe minimum emisji NO jak stwierdziła doktorantka prawdopodobnie wynika z przypadającego po 3 godz. od inokulacji wzrostu aktywności GSNOR. Uzyskane dane skłoniły mgr Andżelikę Drozdę do kontynuowania badań, w których oznaczyła wzór ekspresji genów obronnych *NPR1*, *WRKY1*, *PR1* i *R3a* w liściach ziemniaka po infekcji *P. infestans*, traktowanych GSNO i cPTIO, wykazując najwyższą ekspresję *NPR1*, *WRKY1* i *R3a* po 3 godz., a *PR1* po 6 godz. od infekcji. Ekspresja genów kodujących metylotransferazy lizynowe CLF oraz TrxG była w niewielkim stopniu uzależniona od poziomu NO. Tylko dla *CLF* odnotowano podwyższenie ekspresji po 6-24 godz., przy czym osadzanie znacznika H3K27/me3/*CLF* (hamującego transkrypcję) na promotorach genów obronnych obserwowano zdecydowanie później (za wyjątkiem *WRKY1* w roślinach po 1 godz. od infekcji). Natomiast poziom aktywnego znacznika H3K4me3/*TrxG* (aktywującego transkrypcję) na promotorze genów obronnych w 6 godzinie, odpowiadał zmianom ekspresji tych genów, w danym przedziale czasowym. Analiza ekspresji genu kodującego metylotransferazę argininową PRMT5, wykazała wzrost ekspresji *PRMT5* po 6-24 godz. od inokulacji oraz w roślinach traktowanych GSNO, przy czym widoczny wzrost aktywności białka zanotowano po 24 godz. od infekcji patogenem. Zwiększoną akumulację znacznika H4R3me2/*PRMT5* na promotorze genów: *NPR1*, *WRKY1* i *PR1* obserwowano po 3 godzinie od traktowania GSNO oraz *NPR1* i *R3a* po infekcji patogenem. Dodatkowo dla wykazania istotnego znaczenia metylotransferazy PRMT5 w odporności ziemniaka na *P. infestans* przeprowadzono obserwacje uszkodzeń na liściach, oznaczenia ekspresji genów *R3a* i *HSR203J* (marker programowanej śmierci komórek typu HR) oraz test TUNEL w obecności lub bez inhibitora tego enzymu (GSK3326595). Prezentowane w pracy wyniki wskazują na możliwość wystąpienia międzyhistonowego (H3/H4) dialogu pomiędzy metylotransferazami lizyny i argininy, przy czym obniżenie emisji NO wynikające ze wzrostu aktywności GSNOR (w 6 godzinie od infekcji patogenem) może stanowić czynnik indukujący wymianę znaczników i tym samym odpowiadać za wzrost aktywności genów obronnych. Dane te potwierdzają postawioną w dysertacji hipotezę badawczą zakładającą pośredni udział NO w epigenetycznej regulacji odporności ziemniaka względem *P. infestans*.



Eksperymenty opisane w publikacji nr 1 zostały zaplanowane prawidłowo, opis wyników jest wyczerpujący i bardzo logiczny. Dyskusja w publikacji jest dogłębna i bardzo ciekawa, znacznie lepsza niż w komentarzu w j. polskim, co prawdopodobnie wynika z chęci zredukowania tekstu komentarza do najważniejszych stwierdzeń.

W publikacji nr 2 doktorantka użyła dwie odmiany ziemniaka (Sarpo Mira oraz linię TG97-411) odporne na *P. infestans* do zbadania wpływu NO na regulację (de)metylacji DNA. Liście ziemniaka były infekowane patogenem w celu indukcji zmian emisji NO (które były analogiczne jak w pracy nr 1) lub traktowane GSNO (donorem NO). Stosując test ELISA mgr Drozda wykazała prawie dwukrotne zwiększenie metylacji DNA od 1 do 48 godz. od infekcji patogenem, oraz od 3 do 24 godz. po potraktowaniu liści GSNO. Zaobserwowała wzrost ekspresji genu *CMT3* kodującego chromometylazę następujący we wczesnych fazach infekcji i na początku traktowania GSNO (do 3 godz.). Dokonała oszacowania udziału metylotransferazy histonowej SUVH4 w metylacji DNA, której ekspresja wykazała zmiany analogiczne do zmian emisji NO, z uwagi na fakt, że SUVH4 odpowiada za akumulację supresyjnego znacznik H3K9me2. Poziom znacznika H3K9me2 na promotorze genu *R3a* korelował ze zmianami emisji NO po infekcji patogenem, a dla tkanki traktowanej GSNO był znacząco wyższy po 1 godz. od podania, co odpowiadało kinetyce emisji NO z tego związku. Z kolei analiza ekspresji *Jumonji706* kodującego demetylazę histonową (pośrednio odpowiedzialną za usuwanie supresyjnego znacznika H3K9me2 z promotora genu *R3a*) nie wykazała zależności od GSNO czy patogenu. W kolejnym kroku mgr Andżelika Drozda wykazała, że wzór ekspresji *SAHH*, kodującego hydrolazę S-adenozylhomocysteiny, która uczestniczy w cyklu przemian homocysteiny (SAM/SAH) pokrywał się dwufazową emisją NO po infekcji *P. infestans*, a dla liści traktowanych GSNO był najwyższy po 1 godz. Dodatkowe analizy wskazały na maksimum poziomu nitracji białka SAHH po 6 godzinach od infekcji patogenem, co korelowało z minimum ekspresji genu kodującego to białko. Naturalną konsekwencją otrzymanych danych była analiza szlaku metylacji DNA zależnego od RNA (RdDM). W tym celu Doktorantka zbadła ekspresję genów *AGO4*, *DCL3* oraz powiązanej z tym szlakiem metylotransferazy DNA – *DRM2* wykazując, że nadprodukcja NO we wczesnych fazach infekcji zwiększa poziom transkryptów *DCL3* i *AGO4*. Z kolei, ekspresja *DRM2* nie zależała wyraźnie od infekcji *P. infestans* (rosła dopiero po 6 i 24 godz.), natomiast była znacznie stymulowana przez GSNO (od 1 do 6 godz. od traktowania).



Chcąc dokonać oceny pośredniego wpływu NO na ekspresję wybranych *miRNAs* oraz powiązanych z nimi *R*-genów, w odpornych na patogen odmianach ziemniaka kandydatka porównała profil transkrypcji *R3a* oraz powiązanego z nim *miR482e*, a także profil transkrypcji genu odporności *Rpi-phul* oraz powiązanego z nim *miR6026*. Wykazała, że wzrostowi ekspresji *R3a* w 6 godzinie, towarzyszyło obniżenie ekspresji regulującego go *miR482e* w tym samym czasie. Podobną negatywną zależność stwierdzono między ekspresją genu odporności *Rpi-phul* i *miR6026* w linii TG 97-41(także odpornej na zarazę). Na zakończenie mgr Andżelika Drozda wskazała, że wysoki poziom metylacji DNA po infekcji raczej nie wynikał z zahamowania na poziomie transkrypcyjnym procesu demetylacji, o czym świadczy brak wpływu infekcji patogenem na poziom transkryptów *DME* i niewielki wzrost poziomu transkryptów *DME-like* po 3 i 6 godz. od inokulacji. Jednak z drugiej strony najwyższy poziom ekspresji (około 4-krotny wzrost) genu *ROS1* demetylasy uczestniczącej w szlaku RdDM był obserwowany w 6 godzinie po infekcji *P. infestans* lub podaniu GSNO, co sugeruje nitro-oksydacyjną regulację szlaku RdDM. Obserwowane zmiany emisji NO i silnej metylacji hamowały prawdopodobnie początkowo (w 1-3 godzinie) transkrypcję genów strategii obronnej. Negatywna korelacja ekspresji *miRNAs* na korzyść odpowiednich *R*-genów (w 6 godzinie), sprzyjały późniejszej aktywacji *R*-genów co w rezultacie wzmacniało odporność na patogen badanych odmian ziemniaka.

Muszę przyznać, że jestem pod wrażeniem złożoności zależności, których analizy podjęła się Doktorantka w obu pracach, w szczególności w pracy nr 2. Podobnie jak w pracy nr 1 dyskusja jest tu zgrabna i wyczerpująca. Na podkreślenie zasługuje bardzo drobiazgowy opis metodyczny w tej publikacji. Nie mam żadnych negatywnych uwag do wyników umieszczonych w tej publikacji, wprost przeciwnie są one bardzo przejrzyste, a podpisy pod figurami wzorowe.

W tym miejscu pragnę wskazać, że w obu publikacjach wyniki przedstawiono w sposób jasny i w logicznej kolejności, zostały one prawidłowo zinterpretowane oraz przedyskutowane z najnowszą literaturą z zakresu tematu pracy. Dobór i sposób omawiania literatury przedmiotu oraz rzetelne dyskusowanie z nią własnych wyników potwierdzają wysoki poziom wiedzy Doktorantki. Wnioski sformułowane w komentarzu są adekwatne do uzyskanych wyników i uzasadniane. W podsumowaniu Kandydatka zaproponowała dobry schemat przedstawiający wpływ dwufazowej emisji NO na ekspresję genów regulujących (de)metylację DNA w liściach ziemniaka podczas ataku *P. infestans*. Schemat jest tożsamy ze schematem z publikacji nr 2, jednak szkoda że w podpisie nie uwzględniono wszystkich umieszczonych na rysunku elementów i oznaczeń. Uważam, że komentarz w dysertacji ogólnie został napisany dobrze, chociaż nie dorównuje publikacjom. We wprowadzeniu brakuje mi graficznych



ilustracji opisywanych procesów, co bardzo ułatwiłoby zrozumienie skomplikowanych zależności pomiędzy poszczególnymi badanymi elementami.

Na zakończenie, z powinności recenzenta, mam pewne uwagi odnoszące się do tej części pracy. Doktorantka wprowadziła wiele skrótów (nie tworząc przy tym listy skrótów), w niektórych zdaniach ich nagromadzenie zdecydowanie obniża przejrzystość tekstu, tak że jest on trudny do zrozumienia, np. str. 17 " Oprócz bezpośredniego powiązania między CMT3 i KYP/SUVH4 udokumentowano także pośrednie powiązanie między H3K9me2 odkładanym przez SUVH4 a szlakiem RdDM (Gouil i Baulcombe 2016; Li i in. 2016)". Fragmenty komentarza są prawdopodobnie tłumaczeniem z publikacji w j. angielskim, co sprawiło, że w tekście pojawiają się nieprawidłowe konstrukcje logiczne lub gramatyczne np. str. 14 "... na bioaktywność NO może mieć wpływ zdolność do tworzenia...", powinno brzmieć raczej: "Bioaktywność NO wynika z...", podobnie na tej samej stronie odnajduję fragment "...reaktywność NO może być również zaangażowana w procesy epigenetyczne..." Na str. 18 Doktorantka napisała, "Następnie homocysteina jest przekształcana przez metioninę w SAM, która jest ponownie włączana do cyklu metylacji (jest to dokładna kopia z publikacji nr 2)." Otóż metionina jest produktem pierwszego etapu cyklu przemiany homocysteiny, a potem substratem dla powstania SAM. Nie wynika to jednak z przytoczonego zdania, a byłoby ono zrozumiałe, gdyby umieszczono w pracy schemat cyklu przemian homocysteiny (SAM/SAH).

Na stronie 19 komentarza Autorka dość enigmatycznie stwierdza "Aktualnie dostępne są liczne badania dotyczące całego proteomu, które wykazały, że niektóre komponenty zaangażowane w cykl SAM/SAH poddawane są procesom *S*-nitrozylacji (Lidermayr i in. ...) czy nitrowaniu tyrozyny (Chaki i in. ...), co prowadzi do zmian w statusie metylacji komórek roślinnych." Prosiłabym o podanie tych komponentów, gdyż nie ma takich informacji także w publikacji wchodzącej w skład rozprawy. W ostatnim zdaniu *Wprowadzenia* Doktorantka pisze "Badania obejmują nowatorskie aspekty, które miały na celu wyjaśnienie, czy NO uczestniczy w pośredniej kooperacji z genami obronnymi ziemniaka oraz, czy tego typu interakcje mają podłoże epigenetyczne w postaci targetowanej *de novo* metylacji/demetylacji chromatyny ziemniaka." Przyznam, że nie podoba mi się zarówno "pośrednia kooperacja NO z genami obronnymi", jak również sformułowanie "targetowana metylacja/demetylacja" Proszę o odniesienie się do tych sformułowań w autoreferacie.

W opisie materiałów i metod w j. polskim Kandydatka szeroko przedstawiła materiał badawczy, kulturę roślin ziemniaka, patogenu, inokulację roślin, traktowanie roślin NO, ONOO⁻ i inhibitorem metylotransferazy argininowej (PRMT5). Zastosowane metody badawcze zostały wymienione w tabeli zbiorczej nr 2, w której podporządkowano je poszczególnym zadaniom badawczym. Jest to uzasadnione,



gdyż metodyka została szczegółowo omówiona w pracach eksperymentalnych składających się na rozprawę. Mam jednak kilka pytań odnoszących się do kultury ziemniaka. Rozdział 4.3 str. 24 podano intensywność światła $275 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR, a następnie w warunkach uprawy roślin na str. 25 widnieje informacja, że na kolejnym etapie kultury zastosowano światło PAR $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; proszę o wyjaśnienie z czego wynika ta różnica. Nie bardzo wiem dlaczego glebę sterylizowano 28 dni przed wysadzeniem roślin (str. 25) (w publikacji brak takiej informacji). Na str. 28 podano odnośnik do ryciny 7B, na której nie jest widoczna komora Thoma lecz zarodnie z zarodnikami. W Tabeli 2 na str. 33 i 34 umieszczono kolumnę "Donory NO" w której prawidłowo podano GSNO, ale w kolumnie tej znajduje się też *P. infestans* z dodatkiem lub bez różnych inhibitorów. Rozumiem, że infekcja patogenem prowadzi do zwiększonej emisji NO w liściach ziemniaka, ale jednak nie jest to donor NO, sugerowałabym zmianę nazwy kolumny na np. donor NO/warunki sprzyjające emisji NO.

W spisie literatury Doktorantka nie ustrzegła się niekonsekwencji lub drobnych błędów edytorskich (małe lub duże litery w tytułach prac, nieprawidłowe skróty nazw czasopism). W tekście komentarza dostrzegłam nieliczne, nieznaczające błędy edytorskie.

Podsumowanie

1. Wysoko pod względem merytorycznym oceniam napisane przez mgr Andżelikę Drozdę obie opublikowane prace eksperymentalne, a także załączony komentarz w języku polskim, które stanowią rozprawę doktorską. Podjęta przez Doktorantkę tematyka jest nowatorska i unikatowa w badaniach nad roślinami. Wymagała zgłębienia wiedzy dotyczącej oddziaływań roślina-patogen, zależności związanych z metabolizmem reaktywnych form azotu, a przede wszystkim biegłej znajomości fizjologicznych konsekwencji modyfikacji materiału genetycznego w kontekście nabycia przez roślinę odporności na dany patogen. Uważam, że Doktorantka posiadała umiejętność dokonywania syntezy otrzymanych danych empirycznych, czego dowodem jest schematyczna ilustracja wpływu zmian emisji NO wywołanych infekcją na ekspresję genów kodujących białka zaangażowane w (de)metylację DNA u odmian ziemniaka odpornych na *P. infestans*.
2. Mgr Andżelika Drozda w czasie realizacji celów pracy doktorskiej przeanalizowała dostępną, bogatą literaturę, co pozwoliło jej na bardzo dobrą orientację w podjętej problematyce i przeprowadzenie interesującego wnioskowania, co było nieoczywiste bo jak się okazało wpływ NO nie jest bezpośredni.
3. Doktorantka wykazała się opanowaniem różnych technik badawczych a także zmysłem analitycznym niezbędnym do opracowania danych eksperymentalnych.



4. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki zasługują na zainteresowanie i uwagę badaczy zarówno z zakresu nauk rolniczych i ogrodniczych, jak też z zakresu nauk biologicznych, a podjęta tematyka jest rzadko spotykana w odniesieniu do organizmów roślinnych.

5. Otrzymane przez Doktorantkę wyniki zostały opublikowane w specjalistycznych czasopismach z zakresu Plant Science o wysokim współczynniku oddziaływania, mieszczących się w Q1.

Nie mam wątpliwości, że zaprezentowane przez mgr Andżelikę Drozdę wyniki badań, stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej, wnoszą nowe informacje dla współczesnej wiedzy w zakresie fizjologii roślin uprawnych, w szczególności mechanizmów warunkujących odporność roślin na patogeny. Zawarte w recenzji krytyczne uwagi w żadnej mierze nie pomniejszają wysokiej wartości merytorycznej dysertacji.

Wnioski końcowe

W mojej ocenie rozprawa mgr Andżeliki Drozdy spełnia wszystkie wymagania określone art. 179 ust. 6 ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) oraz w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm). Na tej podstawie wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o przyjęcie przedstawionej rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Andżeliki Drozdy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wkład pracy Doktorantki, nowatorską tematykę dysertacji, zastosowanie nowoczesnych metod badawczych do realizacji celów, a także ze względu na znaczenie wyników badań dla rozwoju wiedzy z zakresu fizjologii roślin wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Andżeliki Drozdy.


Prof. dr hab. Agnieszka Gniazdowska-Piekarska

