

Katowice, 10.11.2023

Dr hab. Agnieszka Janiak, prof. UŚ
Zespół Genetyki i Genomiki Funkcjonalnej Roślin
Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska
Wydział Nauk Przyrodniczych
Uniwersytet Śląski w Katowicach

Recenzja rozprawy doktorskiej pani mgr Pauliny Kościelniak pt.: „Czynniki regulujące wzrost korzeni dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) w warunkach naturalnych i kontenerach szkółkarskich”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została wykonana w Instytucie Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku, pod kierunkiem pana promotora dr hab. Marcina Zadwornego oraz pani dr Pauliny Glazińskiej, jako promotora pomocniczego. Badania przeprowadzone w recenzowanej pracy zostały wykonane w ramach projektu badawczego pt. „Endogenne czynniki regulujące rozwój korzeni palowych dębów - konsekwencje dla uprawy kontenerowej i polowej”, nr 2018/29/B/NZ9/00272, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Na przedstawioną do recenzji pracę składają się następujące części:

1. Streszczenie w języku polskim i angielskim,
2. Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej,
3. Wprowadzenie przygotowane w języku polskim, obejmujące wstęp nakreślający podjęty w pracy problem badawczy, postawione cele, omówienie wyników oraz podsumowanie i spis literatury uwzględnionej w tej części dysertacji,
4. Kopie dwóch artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach o wysokim współczynniku IF, Frontiers in Plant Science oraz Database:
 - Kościelniak P., Glazińska P., Kęsy J., Zadworny M. (2021) Formation and development of taproots in deciduous tree species. Frontiers in Plant Science 12:772567. doi:10.3389/fpls.2021.772567; IF (2021) 6,627; 100 pkt MNiSW
 - Kościelniak P., Glazińska P., Zadworny M. (2022) OakRootRNADB - a consolidated RNA-seq database for coding and noncoding RNA in roots of pedunculate oak (*Quercus robur*). Database: The Journal of Biological Databases and Curation baac097. doi:10.1093/database/baac097; IF (2022) 5,8; 100 pkt MNiSW
5. Manuskrypty dwóch kolejnych, jeszcze nieopublikowanych artykułów:



- Kościelniak P., Glazińska P., Zadworny M. (2023) Early stages in the formation of *Quercus robur* root system: variation in gene expression is linked to the functional type of roots.
- Kościelniak P., Glazińska P., Kęsy J., Mucha J., Zadworny M. (2023) Identification of genetics and hormonal factors involved in *Quercus robur* root growth regulation in different cultivation system.

6. Oświadczenia współautorów dokumentujące zakres udziału każdego z nich w prezentowanych artykułach naukowych.

Przedstawione oświadczenia wskazują na wiodącą rolę doktorantki w przeprowadzonych badaniach i przygotowaniu każdego z manuskryptów. Rolą doktorantki była uprawa roślin dębu szypułkowego, odpowiednia klasyfikacja korzeni i zbiór materiału, przeprowadzenie izolacji RNA i przygotowanie ekstraktów do sekwencjonowania wysokoprzepustowego, przeprowadzenie bioinformatycznej i statystycznej analizy wyników RNA-Seq oraz qPCR, wykonanie analiz ilościowych fitohormonów, interpretacji wyników oraz przygotowanie i zredagowanie manuskryptów publikacji, wraz z opracowaniem schematów, figur i tabel. Zakres wykonanych zadań wskazuje zatem na bardzo dużą samodzielność doktorantki na każdym etapie prowadzonych analiz.

Głównym celem przedstawionej rozprawy było poznanie czynników molekularnych zaangażowanych we wzrost korzeni dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.). Cel ten realizowano wykorzystując sekwencjonowanie transkryptomów korzeni palowych i korzeni bocznych dębu izolowanych z sadzonek rosnących w: (i) ryzotronach, odzwierciadlających naturalny wzrost sadzonek w glebie, (ii) w kontenerach szkółkarskich oraz (iii) sadzonek przesadzanych z kontenerów do ryzotronów. Taki układ eksperymentalny odzwierciedla istotną obserwację dotyczącą żywotności korzeni palowych, która zależy od rodzaju stosowanych pojemników. W ryzotronach korzenie palowe utrzymują prawidłowy wzrost, natomiast w kontenerach szkółkarskich obserwuje się uszkodzenie korzenia palowego, jego zamieranie i kompensacyjne wykształcanie korzeni bocznych, które w konsekwencji skutkuje rozwojem płytkiego systemu korzeniowego. Co ciekawe, zaobserwowano również, że w przypadku części sadzonek dębu rosnących w kontenerach szkółkarskich, u których wzrost korzeni palowych został zahamowany, jest możliwe wznowienie ich wzrostu po przesadzeniu sadzonek do ryzotronów.

Aby określić jakie geny mogą być zaangażowane we wzrost korzeni dębu szypułkowego, w badaniach analizowano transkryptomy izolowane ze strefy merystematycznej korzeni palowych oraz merystemów korzeni bocznych, a także ze strefy wydłużania korzeni palowych. Dodatkowo, korzenie z których pobierano materiał do analiz podzielono na trzy kategorie zależnie od ich długości, obejmujące korzenie krótkie, mierzące od 5 do 9 cm, korzenie średnie, od 9,5 do 15 cm i korzenie długie, powyżej 15 cm. Autorka wzięła także pod uwagę żywotność i morfologię badanych korzeni palowych uwzględniając w swoich analizach korzenie żywotne o typowej morfologii, korzenie żywotne i pogrubione, korzenie o typowej morfologii, ale zamierające oraz korzenie pogrubione i zamierające.

Ponadto, doktorantka uzupełniła dane pochodzące z analiz transkryptomów badaniem zawartości wybranych grup hormonów roślinnych w każdej z wymienionych wyżej kategorii korzeni.

Tak skonstruowany schemat eksperymentu pozwolił doktorantce wygenerować imponującą ilość danych o transkryptomach korzeni dębu szypułkowego, dając jednocześnie możliwość przeprowadzenia różnych kombinacji porównań pomiędzy poszczególnymi układami. Pełny opis danych transkryptomowych oraz różne grupy porównywanych ze sobą układów badawczych autorka podzieliła na trzy artykuły oryginalne. W swojej dysertacji doktorantka uwzględniła także jedną pracę przeglądową, od której pozwolę sobie rozpocząć merytoryczną ocenę pracy doktorskiej.

W publikacji przeglądowej zatytułowanej “Formation and development of taproots in deciduous tree species” doktorantka postawiła sobie za cel scharakteryzowanie palowego systemu korzeniowego, z uwzględnieniem jego morfogenezy oraz funkcji u drzew liściastych, opisanie wpływu wybranych hormonów roślinnych na wzrost korzeni, a także uwzględnienie genetycznej regulacji rozwoju korzeni poprzez czynniki transkrypcyjne i cząsteczki miRNA. Uważam, że tego typu praca stanowi dobry punkt wyjścia, przygotowujący doktoranta do dalszej pracy badawczej. Jednocześnie, zaprezentowany artykuł nasunął mi kilka pytań do autorki:

1. Praca z założenia dotyczyć miała rozwoju palowego systemu korzeniowego u drzew liściastych, niemniej jednak autorka zawarła w jej treści także informacje zaczerpnięte z badań nad gatunkiem modelowym *Arabidopsis thaliana*. Nie jest to zarzut w stosunku do wyboru zaprezentowanych treści, ponieważ tego typu gatunek modelowy stanowi bardzo dobry punkt odniesienia dla podejmowanych rozważań. Niemniej jednak, brakuje mi w tej pracy dobrego rozróżnienia, które z opisywanych genów odnoszą się tylko do gatunku modelowego, a dla których udowodniono rolę w kontroli rozwoju korzeni u drzew liściastych. Dlatego prosiłabym doktorantkę o bardzo zwięzłe przedstawienie, które z opisywanych genów stanowią najważniejsze czynniki o udowodnionej roli w rozwoju korzeni drzew liściastych.
2. W pracy pojawiła się także wzmianka o puli cząsteczek miRNA, które regulują odpowiedź na suszę specyficznie w korzeniach drzew, a nie notuje się ich obecności u roślin jednorocznych. Zagadnienie to nie zostało niestety szerzej omówione. Wydaje się jednak ciekawe w kontekście funkcjonowania systemu korzeniowego u drzew. Prosiłabym zatem o krótkie nakreślenie, jaką liczbę specyficznych dla korzeni drzew cząsteczek miRNA zidentyfikowano i czy wiadomo jakie cząsteczki mRNA są przez nie regulowane.
3. Zauważyłam również, że przygotowana praca przeglądowa oparta jest w dużej mierze o publikacje stosunkowo dawne, sprzed pięciu i więcej lat od daty powstania zaprezentowanej pracy. Prosiłabym zatem o komentarz autorki, czym kierowano się przy wyborze właśnie takiego zakresu prac źródłowych?



Druga praca składająca się na przedstawioną rozprawę doktorską jest już pracą oryginalną, w której autorka opisuje stworzoną przez siebie bazę danych uzyskanych z sekwencjonowania transkryptomów dla wszystkich prób stanowiących badany w toku analiz układ eksperymentalny. Praca ta systematyzuje dostępne informacje dla ponad 72 tysięcy transkryptów zidentyfikowanych w badaniach doktorantki. Zawiera nie tylko dane o ich sekwencjach oraz poziomie ekspresji w każdej z przygotowanych bibliotek do RNA-Seq, ale także najistotniejsze informacje funkcjonalne, opatrzone dodatkowo odniesieniami do innych baz danych, w tym bazy Pfam (InterPro), bazy ontologii genów QuickGO, bazy UniProt oraz KEGG. Przygotowanie, analiza i usystematyzowanie tak dużej liczby danych zasługuje na ogromne uznanie. Świadczy też o umiejętnym korzystaniu przez doktorantkę z różnych narzędzi do bioinformatycznej analizy danych, zarówno tych, służących do analizy surowych danych pochodzących z sekwencjonowania transkryptomów, jak i narzędzi do funkcjonalnej analizy genów *in silico*. Stworzona w ten sposób przez autorkę baza danych stanowi bardzo użyteczne kompendium, gotowe do wykorzystania w różnego typu analizach porównawczych, opartych o nakreśloną w doktoracie koncepcję badawczą.

Szczególną uwagę doktorantka poświęciła genom kodującym czynniki transkrypcyjne, których w przeprowadzonych analizach udało się zidentyfikować blisko 5350. Ze względu na kluczową rolę tych czynników w regulacji ekspresji innych genów, stanowią one interesującą grupę genów kandydackich do dalszych analiz, które mogą być ukierunkowane na poznanie mechanizmów różnicowania i wzrostu korzeni dębu szypułkowego w różnych warunkach uprawy. Dodatkowo, autorka scharakteryzowała także szereg transkryptów dla długich niekodujących cząsteczek RNA oraz miRNA.

W kontekście omawianej publikacji, chciałabym prosić doktorantkę o wyjaśnienie informacji zawartych w Tabeli 3 tego artykułu, w której autorka umieściła liczbę genów o zróżnicowanej ekspresji (DEGs), jakie udało się adnotować z wykorzystaniem różnych narzędzi i baz danych. Użycie tutaj pojęcia „genów o zróżnicowanej ekspresji” sugeruje, że oprócz charakterystyki funkcjonalnej dla wszystkich zidentyfikowanych genów, wykonano na potrzeby tej pracy także analizy porównawcze między badanymi próbami. Jeśli tak było, to do jakich porównań (między którymi próbkami) odnoszą się przedstawione w tabeli liczby genów?

Kolejny manuskrypt nieopublikowanej jeszcze pracy pt. „Early stages in the formation of *Quercus robur* root system: variation in gene expression is linked to the functional type of roots” dotyczy analizy transkryptomów izolowanych ze strefy merystematycznej korzeni pobranych z sadzonek rosnących w ryzotronach. Analizie porównawczej poddano dane o ekspresji genów w merystemach korzeni palowych pochodzących z trzech klas korzeni o różnej długości, strefy merystematycznej korzeni bocznych rozwijających się na korzeniach palowych o średniej długości oraz na korzeniach długich, a także strefy merystematycznej korzeni o zróżnicowanej średnicy i różnej żywotności.

W mojej ocenie jest to najłabsza część przedstawionej do oceny dysertacji, która wymaga istotnego przededagowania i korekty przed wysłaniem manuskryptu do recenzji w wybranym czasopiśmie naukowym.



W opisie metodyki brakuje mi informacji czy w przypadku analiz prowadzących do wskazania genów o zróżnicowanej ekspresji stosowano jakiś test statystyczny dla porównań wielokrotnych, np. test FDR. Podobnie, mam pewną wątpliwość odnośnie wartości FC (fold change) przyjętej dla typowania genów o zróżnicowanej ekspresji. Czy przyjmowano, że geny o zróżnicowanej ekspresji różnią się krotnością zmiany ekspresji na poziomie $FC > 1,5$, jak zapisano w pracy, czy też może na poziomie $\log_2 FC > 1,5$, a obecny zapis jest pomyłkowy?

Podobnie, nie do końca jest dla mnie jasne, jaki zbiór genów został wykorzystany jako tło do analizy nadreprezentacji terminów ontologicznych. Autorka pisze, że były to wszystkie geny uzyskane z wykorzystaniem pakietu Trinotate-v3.2.2. Czy to znaczy, że obejmowały one wszystkie geny dębu szypułkowego czy inny zestaw danych?

Istotnych trudności przysporzyła mi lektura opisu wyników tej części pracy. Doktorantka raz bardzo zawile, innym razem zbyt lakonicznie przedstawia poszczególne wyniki. Dość często także w jednym akapicie połączone są niespójne ze sobą informacje. Głównym mankamentem jest zamieszanie w opisach dotyczących poszczególnych kategorii genów charakteryzujących się zróżnicowaną ekspresją między poszczególnymi parami porównywanych prób (geny określone jako DEG). Często trudno się zorientować, w której próbie z danej pary opisywane geny mają podwyższoną ekspresję, a w której obniżoną.

Dla przykładu, w podrozdziale 3.1.1.1 pojawia się następujący opis:

“The highest number of DEGs encoding transcription factors occurred within the comparison of short (STR) and long (LTR) taproots, with 145 DEGs, of which 142 were down-regulated”.

W której z tych prób obserwowano obniżenie ekspresji wspomnianych genów? W korzeniach krótkich w porównaniu do korzeni długich, czy na odwrót?

W kolejnym zdaniu pojawia się stwierdzenie:

„In long roots compared to short roots, their number decreased almost 4-fold (43 DEGs, of which 40 were down-regulated)”.

Jeżeli porównanie transkryptomów korzeni krótkich do długich pozwoliło na identyfikację 145 genów o zróżnicowanej ekspresji, to porównanie odwrotne: korzeni długich do krótkich powinno dać taką samą liczbę genów. Dlaczego zatem jest ich blisko cztery razy mniej?

W kolejnym akapicie z kolei pojawia się zdanie:

„DEGs TF gene family up-regulation was less uniform among comparisons, with the most pronounced effect manifested by the increased expression of Ethylene-responsive transcription factors (ERF022 and ERF013) at all steps of root elongation (...)”.

Skoro obserwowano podwyższoną ekspresję genów ERF na wszystkich etapach wydłużania korzeni, zakładam, że była ona podwyższona zarówno w korzeniach krótkich, jak i średnich oraz długich. Zatem względem jakiej próby obserwowano owe podwyższenie ekspresji genów ERF?

Przy okazji, myślę, że użycie sformułowania „steps of root elongation” nie jest zbyt fortunne. Kojarzy się ono raczej ze strefą wydłużania korzeni lub dynamiką wzrostu pojedynczego korzenia.

Myślę, że lepiej byłoby w tym kontekście odnosić się bezpośrednio do poszczególnych kategorii korzeni: krótkich, o średniej długości lub długich.

W kolejnym podrozdziale również zamieszczono kłopotliwy w interpretacji opis:

„When MTR and LTR were compared, 6 down-regulated and 11 up-regulated DEGs related to hormone biosynthesis (...) were identified in MTR. The most down-regulated gene was identified among DEGs related to signal transduction in GA, while the up-regulated genes were identified in hormone transport for IAA; indicating that these genes were up-regulated for LTR”.

Analizując powyższe zdanie brak jest jasności, gdzie obserwowano podwyższenie ekspresji genów odpowiedzialnych za transport IAA: w korzeniach o średniej długości czy w korzeniach długich?

Powyższe przykłady nie są niestety jedynymi miejscami, w których panuje pewne zamieszanie w zaprezentowanych danych. Uważnego przerezagowania wymagają także inne podrozdziały wyników, szczególnie te, które dotyczą opisu różnicowanej ekspresji genów kodujących czynniki transkrypcyjne.

W przeciwieństwie do opisu genów o różnicowanej ekspresji w różnych układach porównawczych, znacznie spójniejsze jest przedstawienie wzorów ekspresji genów zidentyfikowanych w oparciu o klastrowanie hierarchiczne danych dla wszystkich porównywanych prób. W tej części autorka zawarła informacje o najważniejszych genach wchodzących w skład każdego z klastrów, co pozwala na stawianie hipotez o ich możliwej roli w rozwoju poszczególnych kategorii analizowanych korzeni.

Dyskusja wyników zaprezentowana w omawianym manuskrypcie również wymaga kilku komentarzy. Na początku dyskusji doktorantka stawia tezę, że podwyższona ekspresja genów w korzeniach długich promuje wydłużanie korzeni. Czy jednak takie stwierdzenie jest w pełni uprawnione? Jeżeli wśród genów o podwyższonej ekspresji w tym typie korzeni znajdują się geny dla negatywnych regulatorów wzrostu, czy wtedy zależność ta nie będzie odwrotna? Prosiłabym o komentarz doktorantki w tym zakresie, w świetle posiadanych danych o transkryptach zidentyfikowanych w strefie merystematycznej korzeni długich.

Chciałabym również zwrócić uwagę autorki na fakt, że dane uzyskiwane z globalnych analiz transkryptomów nie stanowią definitywnego dowodu na istnienie bezpośredniej regulacji między poszczególnymi genami, nawet wtedy, gdy wykazują się one podobnym wzorem ekspresji. Uzyskane w ten sposób dane mogą sugerować takie zależności, ale do ich udowodnienia konieczne są dodatkowe analizy. Dlatego proponowałabym złagodzić niektóre ze stawianych wniosków. Przykładowo, zidentyfikowanie podwyższonej ekspresji genów dla kinaz MAPK, podwyższonej ekspresji czynnika transkrypcyjnego *ERF113* i genu *MYB93* łączonego z regulacją rozwoju korzeni bocznych za pośrednictwem auksyn nie udowadnia jeszcze, że u dębu działa nowy mechanizm kontrolujący rozwój korzeni bocznych wykorzystujący kinazy MAPK i sygnalizację auksyn. Choć poczyniona obserwacja może stanowić hipotezę o istnieniu takiej zależności, którą jednak należy poddać weryfikacji w odpowiednio zaprojektowanym eksperymencie.



Niezależnie od powyższych uwag, z zaprezentowanych w tej części pracy danych wynika, że strefy merystematyczne poszczególnych typów korzeni charakteryzują się dość odmiennym profilem ekspresji genów. O ile takie różnice mogą być zrozumiałe w przypadku korzeni pogrubionych lub zamierających, to w przypadku korzeni typowych jest to obserwacja dość zastanawiająca. Wydaje się, że strefy merystematyczne korzeni w różnym wieku lub o różnej długości powinny być do siebie zbliżone ze względu na ich podobną budowę anatomiczną i rolę, którą jest zapewnianie podziałów komórkowych merystemu wierzchołkowego, umożliwiających wzrost korzeni na długość. W związku z tym chciałabym zapytać doktorantkę od czego może zależeć tak duże zróżnicowanie w profilach ekspresji genów w merystemach korzeniach o typowej morfologii, lecz różniących się długością?

Ostatni z zaprezentowanych artykułów, również nieopublikowany, dotyczy identyfikacji genów oraz profilowania zawartości hormonów roślinnych w korzeniach dębu szypułkowego w zależności od zastosowanego systemu uprawy. W tym przypadku manuskrypt został przygotowany znacznie staranniej. Autorka w dużo bardziej przejrzysty sposób scharakteryzowała poszczególne grupy genów o zróżnicowanej ekspresji w korzeniach sadzonek rosnących w ryzotronach lub kontenerach oraz w korzeniach sadzonek przesadzanych. Wyszczególnione przez doktorantkę grupy funkcjonalne genów charakteryzujące korzenie z różnych systemów uprawy mogą stanowić podstawę do dalszych dociekań nad mechanizmami, które sterują wzrostem korzeni roślin rosnących w różnych warunkach.

Bardzo istotnym dla zrozumienia tych mechanizmów jest uwzględnienie w nim roli hormonów roślinnych, którą doktorantka również podkreśla w tej części pracy, wiążąc informację o zawartości wybranych grup fitohormonów z danymi o ekspresji genów związanych z ich metabolizmem. Jest to moim zdaniem bardzo wartościowa część pracy, nakreślająca sieć zależności, często dość złożonych, między poszczególnymi fitohormonami w kontekście rozwoju analizowanych przez doktorantkę różnych typów korzeni dębu szypułkowego.

Oceniając przedstawioną do recenzji dysertację nie mogę pominąć również części stanowiącej wprowadzenie do uwzględnionych artykułów naukowych, przygotowane w języku polskim. Na początku, w krótkim wstępie autorka nakreśliła poruszany problem badawczy i jego znaczenie aplikacyjne dla produkcji sadzonek dębu szypułkowego w szkołkach otwartych i w uprawach kontenerowych.

W kolejnej części doktorantka zawarła opis celów badawczych. Rozdział ten autorka rozpoczyna wskazaniem, że głównym celem rozprawy było poszerzenie wiedzy o czynnikach regulujących wzrost korzeni palowych dębu szypułkowego. Myślę, że chęć poszerzenia wiedzy przyświeca wszystkim badaniom naukowym, dlatego sugerowałabym by unikać tak ogólnikowych sformułowań. Uważam też, że celem zaprezentowanej pracy nie była analiza biologii rozwoju systemu korzeniowego sadzonek dębu, o czym autorka wspomina w kolejnym akapicie. Biologia rozwoju jest dziedziną bardzo szeroką, obejmująca wszystkie aspekty rozwojowe organizmu lub badanego organu, czego w zaprezentowanej pracy nie realizowano. Dlatego prosiłabym doktorantkę o przeformułowanie i dobre skonkretyzowanie celów badawczych w momencie przygotowywania autoreferatu dysertacji.

Kolejny rozdział tej części stanowi omówienie wyników każdego z ujętych w dysertacji artykułów. Przedstawiona w nim synteza treści zwartych w dwóch pierwszych artykułach jest moim zdaniem przygotowana w sposób informatywny i kompletny. Nieco gorzej przedstawia się omówienie wyników dwóch kolejnych manuskryptów, ponieważ pełne zrozumienie wnioskowania, które autorka przedstawia w tej części opisu jest możliwe dopiero po przeczytaniu całości obu manuskryptów. Ponadto, uwagi krytyczne przedstawione w kontekście pełnej treści manuskryptu trzeciego, dotyczą też zawartego w niniejszej części opisu w języku polskim.

Dodatkowo, chciałabym odnieść się także do zdania na stronie 25 dysertacji, w którym autorka stwierdza, że „zwiększenie ekspresji genów biorących udział w procesach biologicznych związanych z „odpowiedzią komórkową na bodziec aminokwasowy” w sadzonkach ryzotronowych wskazuje na zaangażowanie czynników transkrypcyjnych regulujących zmiany stanu lub aktywności komórki w potencjał elongacyjny (*przyp. AJ.: pewnie powinno być: w potencjale elongacyjnym*) korzenia palowego w ryzotronie”. Żeby móc wyciągnąć taki wniosek, trzeba sięgnąć po konkretne geny należące do wskazanej kategorii ontologicznej. Mogą się w niej bowiem znajdować geny kodujące różne enzymy lub białka zaangażowane w sygnalizację za pośrednictwem aminokwasów, a nie geny kodujące czynniki transkrypcyjne. Sugerowałabym, żeby pod tym kątem prześledzić także inne, podobne wnioski formułowane w zaprezentowanej pracy, by krytycznie ocenić ich poprawność.

Ostatnim, poza spisem literatury elementem tej części dysertacji jest rozdział „Podsumowanie”, w którym doktorantka ujęła najważniejsze wyniki uzyskane podczas realizacji projektu doktorskiego. Jest to w mojej ocenie dość nietypowy zabieg, ponieważ zwykle w tym miejscu formułowane są wnioski płynące z przeprowadzonych badań. Stąd też prosiłabym doktorantkę, aby w przygotowanym autoreferacie postarała się ująć swoje najważniejsze osiągnięcia w postaci wniosków.

Obowiązkiem recenzenta jest także pochylenie się nad stroną redakcyjną i edytorską ocenianej pracy. Zasadniczo, przedstawiona rozprawa doktorska napisana jest poprawnym językiem. Pewną trudnością w odbiorze polskiej części rozprawy było nadmierne i często niewłaściwe użycie przecinków przez doktorantkę, które niepotrzebnie przerywają ciąg logiczny zdania. Dodatkowym utrudnieniem było użycie tej samej czcionki i takich samych odstępów między wierszami w przypadku głównego tekstu pracy i podpisów pod figurami. Znacznie lepiej byłoby, gdyby podpisy wykonano mniejszą czcionką i z pojedynczym odstępem między wierszami.

W pracy pojawiają się też pewne kalki z języka angielskiego lub nie do końca poprawne sformułowania czy skróty myślowe. Przykładowo:

- analiza DEG raczej nie jest narzędziem do wizualizacji dużej liczby danych (strona 19 dysertacji). Jest to raczej analiza pozwalająca na wskazanie genów, które mają znaczenie w regulacji badanych procesów biologicznych;

- wzbogacone ścieżki metaboliczne (strona 20) są kalką językową. Lepiej byłoby mówić o ścieżkach metabolicznych, które są statystycznie istotnie nadreprezentowane w analizowanym zestawie danych;

- odmienianie skrótu DEG, np. „zaobserwowano znaczną liczbę DEGów” (strona 26) jest niepotrzebnym i niewłaściwym spolszczeniem angielskiego skrótu.

Podsumowując, pomimo pewnych uwag krytycznych uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi istotny i naukowo wartościowy wkład w zrozumienie mechanizmów molekularnych kontrolujących wzrost korzeni dębu szypułkowego. Dzięki przeprowadzonym badaniom zgromadzona została ogromna pula danych transkryptomicznych, które będzie można wykorzystać także w kolejnych analizach. Również połączenie analizy ekspresji genów z profilowaniem zawartości fitohormonów pozwala na uzyskanie dużo pełniejszego obrazu zależności regulacyjnych sterujących wzrostem korzeni, szczególnie w kontekście różnych systemów uprawy sadzonek dębu, co może mieć znaczenie aplikacyjne.

Uważam, że rozprawa przedłożona przez panią mgr Paulinę Kościelniak stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wymagania Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 20.07.2018 r. (art. 187, Dz. U. 2022 poz. 574. ze zm.). Zatem wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Dendrologii, PAN w Kórniku o dalsze procedowanie przewodu doktorskiego pani mgr Pauliny Kościelniak.

dr hab. Agnieszka Janiak, prof. UŚ

