



OGRÓD BOTANICZNY
UNIwersYTETU
WARSZAWSKIEGO



UNIwersYTET
WARSZAWSKI

dr hab. Marta Wrzosek, prof. UW

Warszawa, 24.10.2022

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr. Robina Wilgana

pt. „ *Interakcje pomiędzy obcymi gatunkami drzew liściastych*

a rodzimymi symbiontami mykoryzowymi”

wykonanej w Zakładzie Związków Symbiotycznych Instytutu Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku pod kierunkiem Pana dr hab. Tomasza Leskiego, prof. ID PAN oraz Pana dr hab. Marcina Pietrasa, prof. ID PAN.

Wybór tematyki badawczej

Jak powszechnie wiadomo, rośliny inwazyjne w sposób znaczący zmieniają ekosystemy, w które są celowo lub przypadkowo wprowadzone. Jednocześnie wykazano, że kluczową rolę w adaptacji do warunków środowiskowych dla roślin wprowadzanych mogą mieć grzyby wchodzące z nimi w relacje symbiotyczne. Rośliny drzewiaste, które były badane przez Doktoranta najczęściej wchodzą w mykoryzę z grzybami z podkrólestwa Dikarya i te właśnie były poddane najbardziej wnikliwej analizie.

Wybór tematyki badawczej dotyczącej gatunków obcych naszej florze, ale o różnym potencjale inwazyjności, jest w pełni uzasadniony. Porównanie roślin północnoamerykańskich z których jeden – dąb czerwony (*Quercus rubra*) – jest coraz częściej stwierdzany w drzewostanach gospodarczych i efektywnie się w nich rozmnaża, oraz trzech gatunków orzeszników (*Carya* spp.), które, mimo iż w warunkach parkowych kiełkują z nasion, ale nie mają tendencji do ekspansji, może pomóc w odkryciu wzorców ekologicznych, odpowiedzialnych a rozprzestrzenianie się tych obcych roślin i ewentualne negatywne skutki biocenotyczne ich ekspansji.

Tematyka badań jest ściśle powiązana z obszarem zainteresowań naukowych realizowanych w grupie badawczej Pani Profesor Marii Rudawskiej oraz Pana Profesora Tomasza Leskiego, a Arboretum Kórnickie stanowi wymieniony punkt wyjścia i eksperymentalne pole badawcze dla tego typu badań. Jest to tym bardziej cenne, że tu właśnie można znaleźć najwcześniejsze polskie, a może nawet europejskie nasadzenia orzeszników. Bez wątplenia tematyka podjęta przez Doktoranta jest aktualna, o czym świadczą liczne publikacje dotyczące zarówno roślin inwazyjnych, jak i interakcji grzyb/roślina. Biorąc pod uwagę powyższe, należy uznać, że wybrana przez Pana mgr. Robina Wilgana tematyka badań naukowych, która stała się podstawą jego rozprawy doktorskiej, jest aktualna i ma istotne znaczenie poznawcze i praktyczne.

Ocena formalna rozprawy

Przedstawiona do oceny rozprawa składa się z trzech artykułów naukowych w języku angielskim, opublikowanych w pismach o międzynarodowej renomie, poprzedzonych około 30-stronicowym skrótem w języku polskim, będącym posumowaniem całości dzieła. Wszystkie publikacje są kilku autorskie. W pierwszej z nich doktorant ma pozycję trzecią wśród sześciu autorów, w dwu Doktorant jest autorem pierwszym i korespondencyjnym. W pierwszym artykule

opublikowanym w renomowanym piśmie *Mycorrhiza*” (wyd. Springer), mającej pięcioletni miernik wpływu IF= 4.14, pierwszym autorem jest prof. Maria Rudawska, która zadeklarowała swój 35% udział w publikacji, podczas gdy doktorant zadeklarował udział 45%. Jest to dysproporcja nieoczekiwana, bo wiodący autor powinien być wyróżniony w pracy, choćby poprzez pozycję autora korespondencyjnego. Zadeklarowane aktywności składające się na pracę doktoranta to udział w opracowaniu koncepcji badań, analiza morfologiczna i molekularna wierzchołków ektomykoryzowych, identyfikacja molekularna owocników, opracowanie danych i przygotowanie manuskryptu, podczas gdy Profesor Rudawska oświadcza, że współpracowała w części koncepcyjnej, interpretowała wyniki oraz przygotowywała manuskrypt. Nie jest więc jasne czy doktorant pisał pierwszą wersję manuskryptu czy tylko go uzupełniał danymi. Wydaje się, że tę funkcję tradycyjnie bierze na siebie pierwszy Autor. Warto zaznaczyć, że na pozostałych czterech współautorów przypada tylko 20% udziału, a wśród nich dr Leszek Karliński, odpowiedzialny za ocenę zasiedlenia korzeni przez grzyby endomykoryzowe bierze na siebie ważną oraz czasochłonną laboratoryjną część pracy. Wydaje się recenzentowi – może niesłusznie - że proporcje udziału doktoranta w tej publikacji są nie do końca usprawiedliwione. W tej sytuacji ocena wyników z wymienionej publikacji musi być przyjmowana jako ocena zespołu, a nie samego doktoranta. Innymi słowy – wnikliwa ocena dorobku doktoranta będzie abstrahowała od tych części, które trudno przypisać jednoznacznie doktorantowi (część poświęcona udziałowi mykoryz arbuskulanych wraz z interpretacjami). Dwie pozostałe prace nie budzą zastrzeżeń jeśli chodzi o udział Autorów i wiodącą rolę doktoranta. Prace te zostały opublikowane w pismach: *Fungal Ecology* oraz *Forests* (MDPI), z których pierwsze, mimo tej samej punktacji ministerialnej (100 pkt) cieszy się wyższą renomą, niż drugie.

Jako, że wyniki umieszczone w pracy, jak już wspomniano powyżej, doczekały się publikacji, a więc były poddane wcześniej wnikliwej ocenie specjalistów, opinia recenzencka będzie dotyczyć głównie części jak dotąd nierecenzowanej - czyli autoreferatowej oraz będzie zawierać pytania do dyskusji narzucające się w trakcie czytania całej rozprawy.

Ocena układu pracy

Recenzowany autoreferat posiada klasyczny układ, czyli składa się z abstraktów polskiego i angielskiego, dobrze skomponowanego wstępu, celu wraz z hipotezami badawczymi, rozdziału poświęconego materiałowi badawczemu oraz metodom. Część wynikowa jest podzielona na 3 podpunkty i jest uzupełniona pogłębioną, 10-cio stronicową dyskusją. W części końcowej można znaleźć cenny rozdział dotyczący weryfikacji hipotez badawczych oraz poświęcony ostatecznym wnioskom. Ponadto, Pan mgr Robin Wilgan zamieścił na początku autoreferatu spis treści, w części końcowej zaś – bibliografię liczącą 88 pozycji literaturowych. Rozprawa doktorska została opatrzona 3 rycinami, które nie powtarzają się w publikacjach.

Merytoryczna ocena rozprawy

Rozprawę doktorską rozpoczyna „Wstęp”, który wyjaśnia zasadność podjęcia tematu badawczego. Ogólnie omówiono tu zagadnienia związane z wpływem grzybów mykoryzowych na rośliny drzewiaste, w tym również rośliny inwazyjne. Doktorant odniósł się w tej części zarówno do wiedzy podstawowej, jak i bardziej zaawansowanej i mniej znanej – m.in. cytując prace powstałe wcześniej w tym samym ośrodku badawczym. Doktorant stwierdza że „w Europie obce gatunki drzew powszechnie nawiązują symbiozę z lokalnymi gatunkami grzybów mykoryzowych, co potwierdzono dla najbardziej inwazyjnych w Europie gatunków, takich jak robinia akacjowa, czeremcha amerykańska, klon jesionolistny czy dąb czerwony”. W ocenie recenzenta zabrakło w tym miejscu jednoznacznego zaznaczenia, że chodzi w zasadzie o partnerów endomycoryzowych, czyli niewielką liczbę kosmopolitycznych gatunków, co nieco zmienia wydźwięk tej informacji, bo lokalne gatunki mogą być – i zwykle są gatunkami występującymi na obu kontynentach. Właśnie kontrast pomiędzy przeprowadzonymi już badaniami nad grzybami AM, a brakiem badań ECM uzasadnia wartość badań ektomycoryz, które są tworzone przez grzyby bardziej zróżnicowane taksonomicznie i odrębne na różnych kontynentach.

Rozdział poświęcony celom pracy i hipotezom badawczym zajmuje dwie strony. Hipotezy są dobrze sformułowane i omówione. W tym rozdziale Autor zastosował pewne skróty myślowe, które powinny być szerzej omówione, np. nie jest wyjaśnione co Autor rozumie przez ‘różnorodność funkcjonalną mykoryz’. Można ją rozumieć bardzo różnie – nie tylko jako typy eksploracyjne, ale przez funkcje związane z rozkładem martwej materii, czy funkcję łącznikową z innymi gatunkami (tworzenie mykoryzowych sieci troficznych).

W krótkim trzystronicowym rozdziale „Materiał i metody” Doktorant przedstawia ogólną charakterystykę powierzchni badawczych, sposoby identyfikacji grzybów mykoryzowych oraz krótko zarysowuje statystyczne metody opracowania wyników. W mojej opinii część ta byłaby znacznie bardziej czytelna, gdyby Doktorant posłużył się ryciną obrazującą ogólny schemat badawczy, w których w kolejnych krokach coraz lepiej poznaje grzybowych partnerów orzeszników:

- 1) należących do różnych gatunków – jednocześnie kontrolnie zestawiając je z dębem czerwonym,
- 2) różniących się wiekiem,
- 3) bytujących w środowisku antropogenicznym (common garden) oraz w drzewostanie.

Brakuje w tej części również krótkiego i czytelnego przedstawienia filogenetycznych danych o badanych gatunkach drzew. Dowiadujemy się wprawdzie z opisu do jakich rodzin należą rośliny, ale nie wiemy jak np. spokrewnione są ze sobą opisywane orzeszniki. Jest też pewna niespójność między streszczeniem a częścią metodyczną. Dopiero z rozdziału o metodach można się dowiedzieć, że analizowano również owocniki, podczas gdy w streszczeniach autor skupia się wyłącznie na opisie badań wierzchołków mykoryzowych. Czytając część metodyczną zastanawiam się również:

- 1) **dłaczego nie pokuszono się o odczyty sekwencjonowania z obu nici (czyli z primerami ITS4 oraz ITS1F). Jak wiadomo, utworzenie uzgodnionej sekwencji jest znacznie bardziej wiarygodne, niż sekwencjonowanie z pojedynczego startera.**
- 2) Kolejną kwestią wartą dyskusji jest zagadnienie na ile ITS był pewnym i jednoznacznym markerem przypisującym morfotyp. Jak często sekwencja ITS była niewystarczająca i czy w przypadku badania owocników przeprowadzano powtórna, uściślającą analizę

morfologiczną, czy rezygnowano pozostawiając brak oznaczenia gatunkowego lub oznaczenie opisane jako „linia filogenetyczna”. Czy nigdy nie używano dodatkowych starterów?

- 3) Tu rodzi się kolejne zagadnienie warte omówienia: co doktorant ma na myśli pisząc „linia filogenetyczna”? „Królestwo grzybów”, albo „podkrólestwo Dikarya” to również linie filogenetyczne. Wydaje się, że ostatni akapit rozdziału 3.2 powinien wprowadzać w koncepcję „hipotezy gatunkowej”, używanej w bazie UNITE.

Rozdział dotyczący wyników wszystkich trzech opublikowanych prac liczy również 3 strony i zawiera dwie oryginalne ilustracje. W rozdziale tym skrótowo przedstawiono podstawowe różnice w zestawach grzybów mykoryzowych badanych drzew oraz zwrócono uwagę na różnice w udziale grup grzybów mykoryzujących amerykańskie orzeszniki i orzeszniki zaaklimatyzowane w Europie. Bardzo ciekawe jest wykazanie na podstawie dwuczynnikowej analizy wariancji, że lokalizacja ma najsilniejszy wpływ na zestaw i bogactwo grzybów mykoryzowych w warunkach leśnych.

- 4) **Czy doktorant mógłby z tego wysnuć jakiś ogólny wniosek dotyczący powstawania symbiozy mykoryzowej w warunkach naturalnych? Czy w otoczeniu bogatszych lasów stopień zmykoryzowania był bogatszy?**

Interesującym i wartym dyskusji jest punkt rozprawy dyskutujący łatwość nawiązywania mykoryzowych zależności: grzyby europejskie/orzeszniki poprzez ich koewolucję przerwana około 2 mln lat temu na skutek pojawienia się bariery geograficznej. Czy doktorant mógłby ustosunkować się do kwestii

- 5) **dlaczego orzeszniki zostały wyparte z Europy, a zachowały się na kontynencie amerykańskim, skoro niektóre z nich dobrze się aklimatyzują na naszym kontynencie?**

Ciekawe jest odkrycie, że być może *Genea* i *Humaria* i grzyby spokrewnione z nimi jako mykoryzowi partnerzy pojawiają w miejsce *Tuber* i *Helvella*, jeśli warunki środowiskowe nie są optymalne dla dwóch ostatnich. Z powodu komercyjnego potencjału wykorzystania orzeszników przy ew. hodowli trufli taka obserwacja może mieć praktyczne znaczenie. Podobnie istotne jest potwierdzenie znanych danych o odczynie gleb sprzyjającym występowaniu trufli. Wydaje się jednak, że doktorant znajdował jedynie mykoryzy trufli, a nie znajdował owocników. Pytanie nasuwające się w tym momencie brzmi:

- 6) **Jakie są perspektywy znalezienia owocników trufli? Jak dowodzą niektóre publikacje do produkcji owocników trufli niezbędna jest obecność konkretnego zestawu bakterii, więc wysokie pH oraz obecność partnera roślinnego są czynnikami koniecznymi, ale nie wystarczającymi. Czy owocniki trufli były już poszukiwane pod orzesznikami, czy to sprawa przyszłości?**

Informacja podana na str. 27 autoreferatu o ponad 90% udziale mykoryz zawierających *Tuber* na korzeniach dębu czerwonego w warunkach wysokiego pH, rodzi kolejne pytanie:

- 7) **czy w ten sposób (tworząc ogrody truflowe) nie można wykorzystać również inwazyjnego dębu czerwonego?**

Reasumując tę część uważam, że do najważniejszych osiągnięć Doktoranta uzyskanych w trakcie realizacji zadań badawczych składających się na recenzowaną dysertację należy zaliczyć:

- wykazanie odrębnego zestawu grzybów mykoryzowych zasiedlających nieinwazyjne orzeszniki i inwazyjny dąb czerwony
- wykazanie dominującego wpływu lokalizacji na bogactwo grzybów mykoryzowych, co można wykorzystać do uzasadnienia ochrony bogatszych zbiorowisk leśnych jako refugium grzybów mykoryzowych
- Przedstawienie najszerszej dotychczasowej listy grzybów ektomykoryzowych dla orzeszników.
- Wykazanie, że zarówno orzeszniki, jak i dąb czerwony tworzą dwie formy mykoryz – AM oraz EM.

Uwagi edytorskie

Z obowiązków recenzenta muszę zwrócić uwagę na edytorskie i formalne niedociągnięcia części autoreferatowej.

1. Niektóre terminy powinny zostać wprowadzone i wyjaśnione w części wstępnej. Należą do nich – „typ eksploracyjny”, „grupa funkcjonalna”, „linia filogenetyczna”. Jak zaznaczyłam wcześniej są to terminy niejednoznaczne, które mogą być różnie rozumiane.
2. W tekście znajduje się wiele drobnych literówek, które świadczą o pośpiechu, bądź braku należytej staranności w przygotowywaniu tekstu.
3. Autor konsekwentnie wpisuje błędny przydomek gatunkowy *geofillum*, co jest zaskakujące w kontekście trzech opublikowanych prac bez tego błędu, a grzyb *Cenococcum geofilum* jest najczęściej występującym typem mykoryzowym.
4. Rycina nr. 3 powinna zostać wstawiona w innym miejscu, bo odnosi się do tekstu znajdującego się kilka stron dalej i jej lokalizacja w tekście jest nieco myląca.
5. Ważne zdanie podsumowujące badania znajdujące się w angielskim abstrakcie w ogóle nie pojawia się ani w abstrakcie polskim, ani w całej części autoreferatowej. Zdanie to brzmi: *Presented studies have shown that alien ectomycorrhizal tree species probably have low or no negative impact on the local ectomycorrhizal fungi in native ecosystems*. Co więcej, w abstrakcie polskim, znajdujemy zdanie brzmiące odmiennie: „wskazane są dalsze badania, aby określić czy rosnąc w warunkach leśnych inwazyjny dąb czerwony wywiera negatywny wpływ na grzyby mykoryzowe, które są związane z rodzimymi gatunkami drzew”. Prawdopodobnie zdanie to było dyskutowane z Panami Promotorami, ale zmiany zostały uwzględnione wyłącznie w jednej wersji językowej. **Recenzent chciałby dowiedzieć się, pod którą z wersji Doktorant się podpisuje. Czy dąb czerwony raczej nie wywiera złego wpływu, czy jednak uzyskane wyniki są wysoce wątpliwe.**

Wniosek końcowy

Po analizie przedłożonej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że wnosi ona cenny wkład w poszerzenie wiedzy o związkach mykoryzowych roślin obcych dla naszej flory i potencjalnego wykorzystania orzeszników w hodowli trufli. Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemów naukowych wyodrębnionych w kolejnych publikacjach. Prace z pewnością zasługują na uznanie, świadczą o dobrym przygotowaniu merytorycznym i bardzo solidnie przeprowadzonych czasochłonnnych analizach oraz o biegłości warsztatowej Doktoranta. Tym samym uważam, że rozprawa doktorska spełnia ustawowe wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora, określone ustawą o stopniach i tytułach naukowych – uwzględnione w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki w związku z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669). Na tej podstawie wnioskuję do Rady

Naukowej Instytutu Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku dopuszczenie Pana Magistra Robina Wilgana do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.



Dr hab. Marta Wrzosek, prof. UW