



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Biologii
Instytut Biologii Eksperymentalnej
i Biotechnologii Roślin
Zakład Ekofizjologii Molekularnej Roślin

Prof. dr hab. Paweł Sowiński



Warszawa, 27.11.2023

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Alishy Alishy pt. „Phylogenetic and functional studies of *SQUAMOSA PROMOTER BINDING-LIKE* transcription factor gene family members in the liverwort *Marchantia polymorpha*”

Skolonizowanie lądu przez rośliny rozpoczęło się ok. 0,5 mld lat temu, natomiast linia prowadząca do roślin naczyniowych oddzieliła się po ok. 100 mln lat i od dewonu obie linie ewoluowały osobno. Choć współczesne mszaki przypominają budową swoich prymitywnych przodków z epoki kambru, doskonale adaptowały się do późniejszych, wciąż zmieniających się warunków życia na Ziemi. Obecnie należą do gatunków pionierskich, zasiedlających skrajne środowiska przyczyniając się do ich przekształcania, co tworzy lepsze warunki bytowania dla roślin wyższych. Pełnią też ważną rolę w homeostazie bilansu wodnego wielu obszarów. Występują u nich ciekawe przystosowania, np. zdolność gromadzenia wody w strukturach plechy, co umożliwia przetrwanie okresów suszy czy mechanizm zagęszczania dwutlenku węgla (ang. a pyrenoid-based carbon-concentrating mechanism) u glików zwiększający wydajność wiązania dwutlenku węgla z udziałem RUBISCO. Wszystko to wskazuje, że mszaki mogą dostarczyć nowych i bardzo interesujących informacji o mechanizmach ewolucji, a także o wspólnych mechanizmach regulacji procesów biologicznych u roślin niższych i wyższych, w tym na poziomie regulacji ekspresji genów. W tym nurcie lokuję recenzowaną rozprawę doktorską. Została ona wykonana pod opieką

prof. dr hab. Zofii Szweykowskiej-Kulińskiej, promotor rozprawy i dr Izabeli Sierockiej, promotor pomocniczej, w zespole o dużym dorobku i doświadczeniu w dziedzinie, której dotyczy rozprawa.

Uwagi formalne

Rozprawa doktorska jest napisana w języku angielskim. Zawiera się na 145 stronach (bez Bibliografii), a więc jest dość obszerna. W jej skład wchodzi „Wstęp” (27 stron), „Materiały i metody” (26 stron), „Wyniki (62 strony) oraz „Dyskusja” (15 stron). Główny tekst jest poprzedzony informacją o grantach i publikacjach, podziękowaniami, spisem skrótów, spisem treści, abstraktem po angielsku oraz streszczeniem po polsku. Jest to układ typowy dla eksperymentalnych rozpraw doktorskich. Jako niedociągnięcie rozprawy odbieram brak sformułowanych celów (celu) badań. W rozprawach doktorskich cele badań zazwyczaj są zamieszczane w osobnym rozdziale lub podrozdziale. Podawane są tam często również hipotezy, których weryfikacji poświęcony jest projekt doktorski. W recenzowanej rozprawie kilka hipotez zawarto w rozdziałach „Wyniki” oraz „Dyskusja”, część z nich ma jednak charakter cząstkowych hipotez roboczych. W mojej ocenie zabrakło też końcowego podsumowania przedstawiającego w punktach główne konkluzje o charakterze ogólnym. **Podczas publicznej obrony proszę o sformułowanie celów pracy, głównych hipotez, a także o krótkie, kilkupunktowe podsumowanie wniosków przeprowadzonych badań.**

Uwagi szczegółowe

Obiektem badań stanowiących podstawę recenzowanej rozprawy doktorskiej był wątrobowiec *Marchantia polymorpha*, przy czym w pierwszej części pracy analizami filogenetycznymi objęto też inne mszaki reprezentowane w projekcie przez gatunek mchu *Physcomitrium patens* i dwa gatunki glewików *Anthoceros agrestis* i *A. punctatus* skonfrontowane z modelowym gatunkiem

rośliny naczyniowej, *Arabidopsis thaliana*, Analizy były ukierunkowane na czynniki transkrypcyjne z rodziny SQUAMOSA-PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE i wykazały różnicowanie w liczbie członków rodziny SPL, po cztery w dwóch gatunkach glików i u wątrobowca, 13 u mchu i 16 u rzodkiewnika. Związki filogenetyczne rodziny SPL u roślin są stosunkowo częstym tematem badań, jednak dotyczy to najczęściej pokrewieństwa systematycznego w obrębie roślin wyższych. W tym kontekście oryginalny i nowatorski projekt doktorski Pani Alishy Alishy odwołuje się do dużo bardziej odległych związków filogenetycznych z założeniem, że analiza filogenetyczna rodziny SPL u niższych i wyższych roślin lądowych może przyczynić się do lepszego zrozumienia ewolucji roślin lądowych. **Jak można więc wytłumaczyć na gruncie ewolucji większe podobieństwo glików do wątrobowców pod względem liczby członków rodziny SPL, podczas gdy różne topologie (w tym pokazana w rozprawie na Fig. 1, str. 16) uznają glikiki jako bardziej odległe ewolucyjnie od wątrobowców i mchów?**

Druga część pracy ma charakter eksperymentalny i poświęcono ją zbadaniu funkcji dwóch wybranych genów z rodziny SPL (*MpSPL3* i *MpSPL4*) w modelowym gatunku porostnicy wielokształtnej. Przy użyciu szeregu metod biologii molekularnej w tym edytowania genomowego techniką CRISP/Cas9 oraz wykorzystanie sztucznego miRNA wykazano niezbędność obu badanych genów dla przejścia z fazy wegetatywnej w generatywną. Doktorantka przeprowadziła jeszcze badania fenotypu wyprodukowanych roślin z nadekspresją genów *MpSPL3* i *MpSPL4*, miały one jednak miały charakter wstępny i ich wyniki nie są jeszcze w pełni konkluzywne.

W mojej opinii, rozprawa doktorska mgr Alishy Alishy stanowi udane połączenie podejścia bioinformatycznego i eksperymentalnego. Wyniki pierwszej części już zostały skierowane do druku i są dostępne w formie preprintu zamieszczonego na platformie bioRxiv, Należy przypuszczać, że również wyniki części eksperymentalnej zostaną po uzupełnieniu przygotowane do druku, gdyż dostarczają ciekawych i oryginalnych informacji o regulacji ekspresji genów u niższych roślin lądowych.

Podsumowanie

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Alishy Alishy stanowi bardzo wartościowe i oryginalne rozwiązanie zagadnienia funkcji i regulacji ekspresji genów kodujących czynniki transkrypcyjne rodziny *SPL* (*SQUAMOSA-PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE*). W swojej rozprawie doktorskiej mgr Alisha Alisha zaprezentowała wysoką wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauki biologiczne. Świadczą o tym bardzo ciekawe i kompetentnie napisane rozdziały „Wstęp” oraz „Dyskusja”. Doktorantka opanowała wyrafinowane narzędzia bioinformatyczne oraz bardzo zaawansowane techniki biologii molekularnej, co świadczy o jej umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Jej samodzielność jako badacza podkreśla też zdobycie trzech minigrantów doktoranckich wymienionych w rozprawie poza głównym źródłem finansowania badań, grantem NCN kierowanym przez dr Izabelę Sierocką, promotor pomocniczą.

Ja, niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Alishy Alishy spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.) i wnioskuję do Rady naukowej dyscypliny nauki biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczeniu mgr Alishy Alishy do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. Jednocześnie uwzględniając oryginalność tematyki rozprawy, jej wysoką wartość naukową i potencjalne znaczenie dla zrozumienia mechanizmów regulacji ekspresji genów u niższych roślin lądowych, wnoszę o jej wyróżnienie.