

Dr hab. Luiza Handschuh, prof. ICHB PAN
Pracownia Genomiki
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
ul. Noskowskiego 12/14
luizahan@ibch.poznan.pl

Poznań, 16 listopada 2024 r.

Rada Naukowa
Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego
ul. Władysława Węgorka 20
61-318 Poznań

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Barbary Wrześcińskiej-Krupy pt. „Molekularne mechanizmy odpowiedzi *Nicotiana benthamiana* na infekcję wirusem karłowatości orzecha ziemnego (Peanut stunt virus, PSV)”

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska składa się z cyklu pięciu publikacji naukowych, w tym czterech prac eksperymentalnych i jednej przeglądowej. Cztery prace zostały już opublikowane w czasopiśmie z kolekcji Web of Science, eksperymentalne o wskaźniku oddziaływania (ang. *impact factor*, IF), od 1,7 do 5, a przeglądowa w wysokiej rangi czasopiśmie *Biological Reviews*, o wskaźniku oddziaływania 11. Ostatnia z prac eksperymentalnych to manuskrypt złożony w repozytorium BioRxiv w dniu 3.10.2024, nie poddany jeszcze recenzji. Sumaryczny wskaźnik oddziaływania prac wchodzących w skład cyklu wynosi 21,84, natomiast łączna liczba punktów wg klasyfikacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi 350 (dane pochodzące z roku wydania publikacji).

Praca została zrealizowana w Zakładzie Biologii Molekularnej i Biotechnologii, pod kierunkiem dr hab. Aleksandry Obrępańskiej-Stęplowskiej, prof. IOR-PIB. Tematyka rozprawy doskonale wpisuje się w obszar badawczy zarówno zakładu, jak i całego Instytutu. Mimo iż większość prac wykonano na roślinie modelowej, tytoniu *Nicotiana benthamiana*, mają one charakter aplikacyjny, ze względu na znaczenie infekcji wirusowych, w tym także wirusem karłowatości orzecha ziemnego (ang. *peanut stunt virus*, PSV) dla uprawy roślin. Istotną z punktu widzenia rolnictwa grupą roślin podatnych na zakażenie wirusem PSV są rośliny bobowate, stanowiące bogate źródło azotu. Wirus karłowatości orzecha ziemnego, należący do rodzaju *Cucumovirus* i rodziny *Bromoviridae*, jest wirusem RNA i posiada genom złożony z trzech jednoniciowych cząsteczek RNA o dodatniej polarności [ss(+)RNA] oraz dwóch cząsteczek subgenomowych RNA. Niektóre szczepy zawierają ponadto cząsteczki satelitarnego RNA (satRNA), którego wpływ na interakcje między wirusem a roślinnym gospodarzem nie jest jeszcze dobrze poznany. Próbkę wyjaśnienia tego wpływu podjęła mgr Barbara Wrześcińska-Krupa w swojej pracy doktorskiej. Celem pracy było zbadanie procesów molekularnych zachodzących w roślinach na skutek infekcji wirusem PSV i

jego satRNA, a także określenie wpływu satRNA na zachowania mszycy uczestniczącej w transmisji wirusa pomiędzy roślinami.

Dorobek publikacyjny Doktorantki jest znaczący - pięć powiązanych tematycznie publikacji naukowych jest niejednokrotnie podstawą do nadania stopnia doktora habilitowanego, w przypadku doktoratów to rzadkość. Biorąc jednak pod uwagę daty opublikowania poszczególnych prac (2016-2024) oraz to, że jedna z nich to de facto manuskrypt przed etapem recenzji, wnioskować można, że praca nad doktoratem zajęła ponad 8 lat, co jest okresem dłuższym niż przeciętny czas realizacji doktoratu (ok. 5 lat). Na podkreślenie zasługuje fakt, że **we wszystkich pięciu pracach Doktorantka jest pierwszą autorką**, a lista autorów w żadnej z prac nie jest długa (od 2 do 5 nazwisk). Świadczy to niewątpliwie o znaczącym wkładzie Doktorantki w powstanie całego cyklu. Potwierdzają go również znajdujące się w załącznikach oświadczenia wszystkich współautorów. Oświadczenia te mają charakter opisowy, ale zawierają również (nieobligatoryjną) informację na temat wkładu procentowego, według której **wkład Doktorantki wynosił w przypadku pierwszej pracy 40%, drugiej 55%, a trzech ostatnich prac 60%**. Udział w dwóch pracach badaczy z innych ośrodków, w tym krajowych i zagranicznych, jest z kolei dowodem na owocną współpracę naukową. Pewną wątpliwość mogą budzić podpisy badaczy zagranicznych pod oświadczeniami w j. polskim (brak kopii w j. angielskim), ale zakładam, że treść oświadczeń była podpisującym wyjaśniona.

Liczba cytowań artykułów wchodzących w skład cyklu jest mała, przy czym nie jest to jedynie kwestią czasu, ponieważ pierwszy artykuł, który został opublikowany już w 2016 roku, jest cytowany zaledwie 3 razy, natomiast dwa kolejne, opublikowane w roku 2018 i 2021, po 7 i 4 razy (wg bazy Web of Science). Dwie ostatnie prace ze względu na oczywiste cytowań jeszcze nie mają.

OMÓWIENIE PRAC WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU

Pierwsza z prac w cyklu, opublikowana w 2016 r. w czasopiśmie *Journal of Virological Methods*, nosi tytuł "Recombination-based generation of the agroinfectious clones of *Peanut stunt virus*". Jest to praca o charakterze metodycznym, opisująca sposób uzyskania infekcyjnych klonów wirusa PSV w roślinach. Opracowanie tego rodzaju narzędzia było warunkiem niezbędnym do przeprowadzenia badań funkcjonalnych stanowiących główny cel rozprawy. Pełnej długości sekwencje cDNA odpowiadające trzem cząsteczkom RNA wirusa PSV-P (RNA1, RNA2, RNA3) oraz cząsteczce satRNA, zostały wklonowane do wektorów plazmidowych pod kontrolą promotora 35S z wirusa mozaiki kalafiora (CaMV), umożliwiającego transkrypcję wirusowych RNA *in vivo*. Następnie, za pośrednictwem bakterii *Agrobacterium tumefaciens*, infekowano wektorami rośliny tytoniu *Nicotiana benthamiana*. W przypadku roślin infekowanych zarówno samym wirusem PSV-P jak i wirusem z dodatkiem satRNA, uzyskano zamierzony efekt, na co wskazywały systemiczne objawy infekcji jak i obecność wirusa analizowana wielopoziomowo - metodą mikroskopii elektronowej, RT-PCR, Western blot i sekwencjonowania pełnego genomu wirusa metodą Sangera. Wiriony wygenerowane w roślinie modelowej *N. benthamiana*, wykorzystano następnie do ponownej infekcji tytoniu oraz do infekcji fasoli *Phaseolus vulgaris* i grochu *Pisum sativum*. Jak podano w

pracy, sekwencja genomu wirusa wyizolowanego z zainfekowanych roślin tytoniu nieznacznie różniła się od tej zdeponowanej w repozytorium GenBank (i od tej znajdującej się w wektorze). Biorąc pod uwagę dużą zmienność genomów wirusowych, nie jest to dla mnie zaskakujące, natomiast mam pytanie, czy podobne analizy wykonano także dla ponownie infekowanego tytoniu oraz dla roślin fasoli i grochu? Czy możemy oczekiwać, że w trakcie re-infekcji lub infekcji kolejnych roślin wirionami uzyskanymi z tytoniu dojdzie do kolejnych mutacji, w tym i takich wpływających na infekcyjność i czy nie powinniśmy się spodziewać raczej mieszaniny wielu różnych sekwencji wirusa? Czy sekwencje starterów do reakcji PCR projektowano biorąc pod uwagę zmienność wirusa? Mam też pytanie o to jak wyjaśnić obecność podwójnych prążków na żelu (Figure 2) w miejscu oczekiwanego produktu reakcji RT-PCR dla satRNA o długości 393 bp? Z kolei prążki na membranach po Western blot są ledwo widoczne dla *Phaseolus vulgaris* – czy to oznacza, że infekcja fasoli była mniej efektywna niż pozostałych roślin? Jeśli tak, to jak można to wytłumaczyć?

W pracy padło również stwierdzenie, że objawy infekcji u roślin tytoniu były poważniejsze w przypadku koinfekcji wirusa i satRNA, natomiast jedynym tego potwierdzeniem są zdjęcia roślin (Figure 1), w moim odczuciu nie odzwierciedlające wystarczająco różnicy pomiędzy infekcją samym wirusem a wirusem i satRNA. Mocniejszym argumentem byłaby np. analiza wysokości lub masy roślin, wielkości czy liczby liści, liczby produkowanych kwiatów czy nasion, itp.

Druga praca, pt. "Peanut stunt virus and its satellite RNA trigger changes in phosphorylation in *N. benthamiana* infected plants at the early stage of the infection", opublikowana w roku 2018 w *International Journal of Molecular Sciences*, prezentuje wyniki analiz proteomicznych i fosfoproteomicznych roślin po infekcji PSV. Przesłanką do ich wykonania były wyniki opublikowanych wcześniej analiz transkryptomicznych, które wskazywały na deregulację genów kodujących białka związane z fosforylacją. Fosforylacja białek, jako modyfikacja potranslacyjna, umożliwia komórkom szybką reakcję na zmieniające się warunki poprzez uruchomienie kaskad sygnałowych. Autorzy pracy przypuszczali, że to właśnie fosforylacja białek może być jednym z głównych procesów, na które wpływa obecność satRNA w trakcie infekcji wirusowej. Badaniu poddano więc siewki *N. benthamiana* infekowane wirusem PSV-P z udziałem lub bez satRNA, na wczesnym etapie infekcji. Grupę kontrolną stanowiły rośliny traktowane wyłącznie buforem fosforanowym. Porównania pomiędzy trzema grupami roślin wykazały szereg istotnych różnic, m.in. obniżenie globalnego poziomu fosforylacji białek w roślinach infekowanych PSV bez satRNA i zmniejszenie akumulacji wielu białek, w tym rybosomalnych i związanych z fotosyntezą, w roślinach infekowanych PSV z udziałem satRNA. Analiza ontologii genowych pokazała, że zaobserwowane zmiany dotyczą poziomu akumulacji i fosforylacji białek związanych zarówno z odpowiedzią obronną roślin jak i podstawowymi procesami metabolicznymi czy transportem RNA. Jak podkreślają autorzy pracy, jest to pierwszy zbiór danych proteomicznych i fosfoproteomicznych dotyczących roślin zainfekowanych wirusem rodzaju *Cucumovirus*. W mojej opinii miałby on znacznie większą wartość, gdyby wykonano co najmniej dwa powtórzenia całego eksperymentu lub analizowano każdą z roślin osobno zamiast przeprowadzenia jednej zbiorczej analizy, obejmującej po 6 siewek na każdą

grupę roślin. Ekspresję genów kodujących wybrane białka zidentyfikowane w toku analiz, zbadano metodą RT-qPCR. Okazało się, że nie zawsze zmiana na poziomie transkryptu koreluje ze zmianą na poziomie białka, a zmiana w akumulacji białka nie zawsze koreluje z poziomem akumulacji białka fosforylowanego. W tym miejscu prosiłabym Doktorantkę o dodatkowy komentarz.

Z informacji znajdującej się pod pracą nr 2, dotyczącej materiałów suplementarnych zamieszczonych na nośniku elektronicznym, wynika, że w tekście artykułu doszło do pomyłki w numeracji tabel. Uważam, że należałoby to skorygować również w wydawnictwie, zamieszczając na stronie czasopisma stosowaną erratę do już opublikowanego artykułu. Poza tym na wykresie Supplementary Figure S1, prezentującym liczbę kopii poszczególnych RNA wirusa, brakuje mi wyniku dla satRNA, choć jest o nim mowa w opisie. Prosiłabym również o komentarz dotyczący statystycznie istotnej różnicy pomiędzy liczbą kopii tylko RNA3 w roślinach infekowanych PSV-P oraz PSV-P z dodatkiem satRNA.

Trzecia praca, opublikowana w roku 2021 w *Plant Cell Reports*, nosi tytuł “Multiple cellular compartments engagement in *Nicotiana benthamiana*-peanut stunt virus satRNA interactions revealed by systems biology approach”. Tematem pracy była multiomiczna analiza roślin infekowanych PSV-P, PSV-P wraz z satRNA oraz roślin kontrolnych, ze szczególnym uwzględnieniem roli poszczególnych przedziałów komórkowych w odpowiedzi na infekcję wirusową. Wygenerowano dwa nowe zestawy danych transkryptomicznych, jeden pochodzący z sekwencjonowania nowej generacji krótkich RNA (sRNA), drugi z eksperymentu mikromacierzowego, którego celem było zbadanie poziomu transkryptów kodujących białka. Oba zestawy danych zdeponowano w publicznie dostępnych repozytoriach, co samo w sobie stanowi istotną wartość pracy, ponieważ zbiory te mogą być źródłem ponownych analiz. Dane transkryptomiczne porównano następnie z danymi proteomicznymi i fosfoproteomicznymi uzyskanymi w ramach publikacji nr. 2, wspierając się informacjami znajdującymi się w bazach danych. Analiza ontologii genowych pozwoliła wnioskować nie tylko na temat głównych procesów podlegających deregulacji na skutek infekcji, ale także przypisać je do poszczególnych przedziałów komórkowych. Interesującym wynikiem jest m.in. obniżenie ekspresji licznych transkryptów kodujących białka chloroplastowe, podwyższenie poziomu sRNA oraz obniżenie poziomu akumulacji w chloroplastach białek i białek fosforylowanych pod wpływem infekcji wirusowej, niezależnie od tego, czy odbywała się ona z udziałem satRNA czy nie. Inną ciekawą obserwacją były podwyższony poziom transkrypcji genów kodujących białka mitochondrialne oraz fosforylacji białek mitochondrialnych w roślinach infekowanych PSV-P bez satRNA. Wartościowym elementem pracy jest także weryfikacja poziomu wybranych sRNA oraz mRNA metodą RT-qPCR, której wynik był w większości przypadków pozytywny.

Integracyjna analiza danych omicznych stanowi duże wyzwanie, szczególnie gdy jej obiektem jest roślina. Doktorantka zetknęła się z tym chociażby przy analizie sRNA, w której wielu sekwencji nie udało się przypisać do znanych miRNA czy ta-siRNA. Myślę, że gdyby nie problemy z adnotacją sRNA, może udało by się zidentyfikować więcej krótkich RNA różniących się poziomem ekspresji pomiędzy badanymi grupami roślin. Mam w związku z tym pytanie czy podjęto próbę przypisania tych nieznanymi sekwencji

do innych RNA niż miRNA i ta-siRNA, np. tRNA, których fragmenty często znajdują się w zbiorze sRNA po sekwencjonowaniu?

Czwarta w kolejności praca, pt. „Symptom-modulating satRNAs of cucumoviruses affect the orientation and feeding behaviour of *Myzus persicae*” to manuskrypt zamieszczony na stronie BioRxiv. Praca ta przedstawia wyniki badań wpływu satRNA towarzyszącego infekcji wirusowej na zachowania i preferencje żywieniowe mszyc brzoskwińowych, owadów uczestniczących w transmisji wirusa w środowisku. Badania wykonano na dwóch modelach roślinnych, na tytoniu *Nicotiana benthamiana* oraz na roślinie użytkowej, pomidorze *Solanum lycopersicum* L., w różnych układach infekcyjnych, z samym wirusem lub z dodatkiem satRNA. Do infekcji tytoniu wykorzystano dwa szczepy wirusa PSV (G i P) oraz wirusa mozaiki ogórka (CMV), natomiast pomidory infekowano CMV. Szczep PSV-G jest naturalnie pozbawiony satRNA i dodanie do niego satRNA zaostrza objawy infekcji. Z kolei szczep PSV-P naturalnie występuje z satRNA, który osłabia objawy infekcji. Infekcję CMV przeprowadzono z dodatkiem dwóch rodzajów satRNA, nienekrogenego (non-nc-satRNA) lub nekrogenego (nc-satRNA). W każdym doświadczeniu kontrolę stanowiły rośliny nieinfekowane. Eksperymenty przy użyciu olfaktometru wykazały, że w przypadku tytoniu w układzie z PSV-G mszyce najchętniej kierowały się do roślin zainfekowanych samym wirusem, bez dodatku satRNA, natomiast w układzie z PSV-P do roślin zainfekowanych wirusem wraz z satRNA. Zarówno z tych eksperymentów jak i z obserwacji owadów żerujących na tytoniu wyłania się obraz, w którym rośliny z łagodnymi objawami infekcji stają się najbardziej atrakcyjne dla owadów, co w efekcie prowadzi do skutecznej transmisji wirusa. Potwierdza to również obserwacja infekcji tytoniu wirusem CMV - w układzie z nc-satRNA owady wybierały rośliny zainfekowane samym wirusem, bez satRNA. Inaczej jednak było w przypadku pomidora, kiedy owady zdecydowanie kierowały się w stronę roślin nieinfekowanych. Z kolei w badaniach preferencji żywieniowych mszyc żerujących na pomidorach nie wykazano żadnych statystycznie istotnych różnic. Rozbieżne wyniki uzyskane na innych roślinach rodzą pytanie o uniwersalność mechanizmu postulowanego przez autorów pracy i w związku z tym prosiłabym Doktorantkę o komentarz. Moje wątpliwości budzi też mała grupa owadów oraz spora rozbieżność w wynikach pomiędzy powtórzeniami biologicznymi. Mam również pytanie o to, dlaczego tak niewielki procent mszyc (15-20%) wykazywał jakiegokolwiek ukierunkowanie? Czy można byłoby wykonać dla porównania eksperyment z wykorzystaniem znanych, np. chemicznych atraktantów i repelentów, żeby sprawdzić czy reakcja owadów będzie wówczas silniejsza? Jeśli chodzi o wyniki badań preferencji żywieniowych mszyc, ich przedstawienie graficzne zamiast tabelarycznego, podobnie jak to miało miejsce dla wyników olfaktometrycznych, byłoby czytelniejsze.

Ostatnia z prac, zatytułowana „Small non-coding satellite RNAs – the ‘game changers’ at the virus–host plant interaction?” to praca przeglądowa opublikowana w wysoko punktowanym magazynie *Biological Reviews*. Praca to podsumowuje dotychczasowy stan wiedzy na temat satRNA, z uwzględnieniem szerokiego spektrum wirusów roślinnych oraz takich aspektów jak pochodzenie satRNA, jego wpływ na przebieg infekcji wirusowej, interakcje z wirusem pomocniczym, metabolizm rośliny-

gospodarza i jej mechanizmy obronne, udział zewnętrznych czynników biotycznych i abiotycznych w patogenezie chorób wirusowych roślin. Warto zaznaczyć, że wyniki badań Doktorantki przyczyniły się do pogłębienia wiedzy na temat roli satRNA, szczególnie satRNA towarzyszącego infekcji PSV. Osobiście bardzo zainteresował mnie rozdział poświęcony pochodzeniu satRNA, prezentujący kilka ciekawych hipotez. Mimo, iż żadna z nich nie została jeszcze ostatecznie zweryfikowana, chciałabym usłyszeć, którą z hipotez Doktorantka uważa za najbardziej prawdopodobną i dlaczego. Prosiłabym również o odpowiedź na pytanie o kierunek ewolucji satRNA – czy można uznać, że istnieje tendencja ewolucyjna w kierunku zaostrzania lub łagodzenia objawów infekcji wirusowej za pośrednictwem satRNA? Na koniec chętnie poznałabym opinię Doktorantki na temat potencjalnego wykorzystania satRNA w rolnictwie.

OCENA OPISOWEJ CZĘŚCI ROZPRAWY

Opracowanie polskie jest zwarte (50 stron), przejrzyste i zrozumiałe. Składa się z następujących elementów: spisu treści (2 strony), wykazu publikacji wchodzących w skład rozprawy (2 strony), streszczenia w j. polskim i angielskim (łącznie 6 stron), wykazu skrótów (1 strona), wprowadzenia (7 stron), hipotez badawczych (2 strony), celów pracy (2 strony), metodyki (8 stron), wyników (10 stron), podsumowania (3 strony), wniosków końcowych (2 strony), spisu literatury (4 strony) oraz informacji nt. źródeł finansowania badań (1 strona). Dalej znajdują się załączniki zawierające pełne teksty wszystkich prac wchodzących w skład cyklu, wraz z materiałami suplementarnymi, oraz oświadczenia współautorów. Największe objętościowo tabele suplementarne dostarczono na nośniku elektronicznym, jednakże folder dotyczący publikacji nr 2 okazał się pusty, a ten dotyczący publikacji nr 3 zawierał 2 pliki xlsx, lecz żadnego z nich nie dało się otworzyć. Obie publikacje zostały jednak opublikowane w trybie otwartego dostępu i wszelkie materiały do nich znajdują się na stronie wydawnictw.

W opisowej części rozprawy brakuje mi jedynie rysunków. Wprowadzenie zawiera tylko jedno zdjęcie i jedną rycinę, zaczerpnięte z publikacji. Obecność elementów graficznych nie jest wymogiem obligatoryjnym, ale z pewnością urozmaiciłaby lekturę polskiego opisu, a schemat genomu wirusa we wstępie ułatwiłby zrozumienie dalszej części tekstu. Nie znalazłam takiego schematu w żadnej z załączonych prac, również w pracy przeglądowej, w której byłby przydatnym elementem.

Drobne uchybienia, które zwróciły moją uwagę, to błąd edytorski w tytule rozdziału streszczenie („strzeszczenie”) oraz tzw. kalki językowe, czyli nie do końca trafne, dosłowne tłumaczenia terminów angielskich, np. „atrakcyjność sensoryczna porażonych roślin”, „zachowanie orientacyjne wektora PSV”, „perturbacje w poziomach akumulacji”, czy zawarty w oświadczeniach udział współautorki „polegający na konceptualizacji” (polskie znaczenie słowa „konceptualizacja” odbiega od tego znanego nam z j. angielskiego). Błędy te nie obniżają znaczenia merytorycznego pracy, jednakże warto byłoby się ich wystrzegać w polskojęzycznych opracowaniach naukowych.

Choć nie jest to przedmiotem niniejszej recenzji, warto dodać, że poza cyklem publikacji wchodzących w skład rozprawy, Doktorantka jest współautorką 12 publikacji z bazy PubMed, a 19 z bazy Google Scholar, co jest wynikiem bardzo dobrym na tym etapie kariery i świetnie rokuje na przyszłość.

PODSUMOWANIE

Poddany ocenie cykl publikacji jest bardzo spójny, a ich opis klarowny. W kolejnych krokach Doktorantka konsekwentnie realizuje ściśle wytyczone cele, rozpoczynając od opracowania optymalnego narzędzia do wywoływania infekcji wirusowej w roślinach, poprzez analizy odpowiedzi roślin na infekcję wirusa (z dodatkiem lub bez satRNA) na poziomie białek, transkryptów i kompartmentów komórkowych, po badania wpływu różnych konfiguracji infekcji na zachowania owadów odpowiadających za transmisję wirusa w środowisku. Cykl kończy wartościowa praca przeglądowa podsumowująca obecny stan wiedzy na temat roli satRNA w infekcji wirusowej roślin. Należy przyznać, że wkład Doktorantki w obecny stan wiedzy w tym zakresie jest zauważalny.

Podsumowując, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Barbary Wrzesińskiej-Krupy, stanowiąca zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, odpowiada wymaganiom stawianym osobom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora określonym w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668, z późn. zm.), Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) oraz Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882 z późn. zm.). W związku z powyższym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie mgr Barbary Wrzesińskiej-Krupy do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na wysoką wartość merytoryczną pracy, przemyślane, systematyczne i kompleksowe podejście eksperymentalne oraz zebranie i omówienie wyników przeprowadzonych badań w pięciu artykułach naukowych wnioskuję również o wyróżnienie rozprawy.

dr hab. Luiza Handschuh, prof. ICHB PAN