

Prof. dr hab. Wanda Małek  
Katedra Genetyki i Mikrobiologii  
Instytut Nauk Biologicznych  
Wydział Biologii i Biotechnologii  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej  
ul. Akademicka 19  
20-033 Lublin

Lublin, 16.02.2021

#### **Ocena**

**osiągnięcia naukowego, pt. „Rearanżacja apoplastu w symbiozach korzeniowych wybranych gatunków roślin bobowatych w odpowiedzi na stres glinowy”, całego dorobku naukowego, aktywności naukowej, oraz działalności dydaktycznej i organizacyjnej dr inż. Marzeny Sujkowskiej-Rybkowskiej, adiunkta w Katedrze Botaniki, Instytutu Biologii, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo**

Dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska ukończyła studia na Wydziale Rolniczym Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego (SGGW) w Warszawie uzyskując w 2001 roku tytuł magistra inżyniera rolnictwa, specjalność ochrona środowiska rolniczego. Promotorem pracy magisterskiej Habilitantki, pt. „Wpływ zasolenia podłoża chlorkiem sodu na strukturę brodawek korzeniowych grochu” (dyplom z wyróżnieniem) był dr Wojciech Borucki.

Stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii, nadanej uchwałą Rady Wydziału Rolnictwa i Biologii SGGW w Warszawie, Pani Marzena Sujkowska-Rybkowska uzyskała w roku 2006 na podstawie rozprawy, pt. „Charakterystyka apoplastu efektywnych i nieefektywnych brodawek korzeniowych grochu” (dyplom z wyróżnieniem) przeprowadzonej na Wydziale Rolnictwa i Biologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Promotorem rozprawy doktorskiej był prof. dr. hab. Władysław Golinowski.

W latach 2006-2013 Habilitantka była zatrudniona na stanowisku adiunkta w Katedrze Botaniki, Wydziału Rolnictwa i Biologii SGGW w Warszawie, a od 2013 do chwili obecnej pracuje na stanowisku adiunkta również w Katedrze Botaniki SGGW w Warszawie.

#### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Osiągnięcie naukowe dr inż. Marzeny Sujkowskiej-Rybkowskiej, pt. „Rearanżacja apoplastu w symbiozach korzeniowych wybranych gatunków roślin bobowatych w odpowiedzi na stres glinowy” zostało przedstawione w formie cyklu powiązanych tematycznie siedmiu oryginalnych prac naukowych opublikowanych w latach 2012-2018. Prace te zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, ujętych w bazie Web of Science Core Collection, tj. Symbiosis (1 praca), Acta Physiologia Plantarum (1 praca), Micron (2 prace) i Journal of Plant Physiology (3 prace). Sumaryczny współczynnik wpływu tych publikacji (IF) wynosi 16,016, a ich łączna punktacja, według MNiSW to 210.

Sześć prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego jest wieloautorskich. Cztery prace są dwuautorskie, a dwie prace są odpowiednio, trójautorskie i czteroautorskie. Habilitantka jest jedynym autorem pracy opublikowanej w *Acta Physiologia Plantarum*. We wszystkich siedmiu pracach dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska jest autorem korespondencyjnym, o 70-100% udziale w powstaniu tych publikacji i autorem koncepcji badań. Habilitantka planowała i realizowała większość eksperymentów, opracowywała manuskrypty do publikacji i dokonywała ich korekty zgodnie z uwagami recenzentów. Na podkreślenie zasługuje fakt, że trzy prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały wyróżnione nagrodą III stopnia Rektora SGGW w roku 2016.

Powyższe dane wskazują na bardzo duży udział Pani Marzeny Sujkowskiej-Rybkowskiej w powstaniu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego i moim zdaniem, prace te mogą stanowić podstawę do rozpoczęcia postępowania habilitacyjnego.

W swoich badaniach, które zaowocowały powstaniem publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska skupiła się na zagadnieniu dotyczącym przebudowy apoplastu organów symbiotycznych, tj. brodawek korzeniowych i korzeni zmikoryzowanych dwóch gatunków roślin bobowatych: *Medicago truncatula* i *Pisum sativum*, jako mechanizmu obronnego przed toksycznym działaniem glinu. Wybór roślin bobowatych o dużym znaczeniu rolniczym, ze względu na ich symbiozę z bakteriami brodawkowymi wiążącymi azot cząsteczkowy, zwanymi też ryzobiami, jak i symbiozę z arbuskularnymi grzybami mikoryzowymi, które zwiększając powierzchnię chłonną korzeni roślin zwiększają dostęp do wody i składników pokarmowych, zwłaszcza fosforu nieorganicznego, był jak najbardziej słuszny. Habilitantka postawiła i w pełni zrealizowała trzy cele badawcze takie jak:

1. Identyfikacja zmian strukturalnych i ultrastrukturalnych w organach symbiotycznych roślin bobowatych wywołanych toksycznym działaniem glinu;
2. Określenie roli wybranych komponentów ściany komórkowej w obronie przed stresem glinowym;
3. Określenie roli wybranych reaktywnych form tlenu i azotu w przebudowie ścian komórkowych organów symbiotycznych w odpowiedzi na stres glinowy.

W pierwszym etapie badań dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska analizowała toksyczne działanie glinu na strukturę brodawek i mechanizmy obronne brodawek korzeniowych przed stresem glinowym w oparciu o mikroskopię świetlną i elektronową. Wykazała, że jony glinu akumulują się głównie w ścianach komórkowych peryferycznych komórek tkanek korowych brodawek korzeniowych, i że kora brodawki korzeniowej stanowi główną barierę dla toksycznych jonów glinu. Udokumentowała również, że glin powoduje deformację błon perybakteroidalnych symbiosomów i przedwczesną degradację bakteroidów jak i wykazała **po raz pierwszy**, że jony glinu powodują zmiany strukturalne w niciach infekcyjnych, zaburzenia w ich wzroście i endocytozie bakterii z nici infekcyjnej do cytoplazmy komórek rośliny, a więc wpływa na proces infekcji przez ryzobia i tworzenia funkcjonalnych, efektywnych brodawek (praca P1, P2).

Habilitantka badała również reakcję mikoryzy na stres glinowy w układzie symbiotycznym *M. truncatula-Rhizophagus irregularis* tworzącym mikoryzę arbuskularną (prace P6, P7). W badaniach tych, wykazała **po raz pierwszy**, że krótkotrwały stres glinowy powoduje grubienie ścian komórek kory pierwotnej korzeni i warstwy przestrzeni apoplastycznej wokół arbuskul, co stanowi obronę przed migracją toksycznych jonów glinu do cytoplazmy komórek. Analizowała także udział jonów wapnia i białka kalretikuliny w przebudowie apoplastu w warunkach stresu glinowego (metoda histochemiczna – jony wapnia, metoda immunocytochemiczna z przeciwciałami monoklonalnymi – kalretikulina) (praca P7). Dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska wykazała, że przebudowa ścian komórek kory pierwotnej korzenia i przestrzeni periarbuskularnej związana jest ze zwiększoną ilością wolnych jonów  $Ca^{2+}$ , co z kolei, jest ściśle skorelowane z obecnością białka kalretikuliny. Udokumentowała więc udział kalretikuliny w mobilizacji jonów wapnia w mikoryzie i pośredni jej udział w strategii obronnej przed stresem glinowym (praca P7).

Dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska, mając na uwadze zmiany w apoplaście brodawek grochu wywołanych działaniem jonów glinu, przeprowadziła badania immunocytochemiczne z wykorzystaniem specyficznych przeciwciał identyfikujących składniki ściany komórkowej, takie jak pektyny i ekstensyny (prace P4, P5). W oparciu o te badania wykazała, że w apoplaście brodawek korzeniowych traktowanych glinem (24h 50 $\mu$ M AlCl<sub>3</sub>) znacznie wzrasta ilość ekstensyn, tj. białek strukturalnych ściany komórkowej, które występują w większości tkanek roślinnych jak i w matriks nicy infekcyjnej i przestrzeni periarbuskularnej. Habilitantka wykazała, co stwierdzili również inni badacze, że wzrost ilości ekstensyn w przestworach międzykomórkowych tkanek korowych brodawek może stanowić część tzw. bariery dyfuzyjnej ograniczającej przechodzenie toksycznych jonów glinu do tkanki bakteroidalnej, w której zachodzi wiązanie  $N_2$ . Ponadto udokumentowała, że obecność grubej warstwy materiału ściennego na wierzchołki nici infekcyjnej, indukowana glinem, utrudnia uwalnianie ryzobionów z nici infekcyjnej, co może również wynikać z usztywnienia matriks nicy infekcyjnej przez ekstensyny, a to z jednej strony, jak słusznie pisze Habilitantka, może chronić roślinę przed toksycznymi jonami glinu, ale też hamować rozwój symbiozy roślinna bobowata-ryzobia.

Udział pektyn we wzroście grubości ścian komórkowych i hamowaniu wzrostu nici infekcyjnych podczas stresu wywołanego glinem, dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska badała poprzez histochemiczne barwienie czerwienią rutenową i metodą immunocytochemiczną z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych specyficznych dla pektyn o wysokiej estryfikacji metylowej, pektyn o niskiej estryfikacji metylowej i pektyn sieciowanych wapniem. Habilitantka wykazała **po raz pierwszy**, że w brodawkach korzeniowych traktowanych glinem zwiększa się ilość pektyn de-estryfikowanych, przy jednoczesnym spadku frakcji pektyn zestryfikowanych. Zwiększona ilość pektyn de-estryfikowanych w ścianie nici infekcyjnej, wywołana obecnością glinu to, jak słusznie pisze Habilitantka, najbardziej prawdopodobna przyczyna wzrostu grubości jej ścian, a więc i możliwość gromadzenia metali, co zapewne stanowi mechanizm obronny komórki roślinnej przed toksycznym działaniem glinu (praca P5).

Habilitantka mając na uwadze, że toksyczność glinu wywołuje stres oksydacyjny w wyniku zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu (RTF) podjęła się określenia roli reaktywnych form tlenu i azotu w przebudowie ścian komórkowych organów symbiotycznych w odpowiedzi na stres glinowy (prace P2, P3, P6). Co ciekawe, w oparciu o badania cytochemiczne (poziom RTF) Pani Marzena Sujkowska-Rybkowska wykazała, że glin powoduje wzrost ilości RFT, które gromadziły się zarówno w symplacie jak i apoplacie komórek brodawek korzeniowych grochu, i że wzrostowi produkcji reaktywnych form tlenu towarzyszy spadek aktywności katalazy (CAT) oraz wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i peroksydazy (POX). Habilitantka, mając na uwadze zwiększoną aktywność POX i jednoczesny spadek aktywności CAT w symplacie i apoplacie komórek brodawek roślin traktowanych glinem, stwierdziła, że  $H_2O_2$  jest głównie zużywany w procesach sieciowania białek ściany komórkowej i jej usztywniania. Stosując metodę cytochemiczną na poziomie ultrastrukturalnym dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska wykazała zwiększoną akumulację nadtlenu wodoru w czasie stresu glinowego w ścianach komórkowych brodawek jak i niciach infekcyjnych i udokumentowała, że w generowaniu  $H_2O_2$ , modyfikującego apoplast brodawek uczestniczy enzym ściany komórkowej - oksydaza diaminowa.

W oparciu o dane literaturowe, wskazujące na udział tlenu azotu (NO) w pre-kolonizacji korzeni przez grzyby mikoryzowe, regulacji odpowiedzi roślin na stres i w procesach metabolicznych ściany komórkowej, która jest głównym celem toksycznego działania jonów glinu, Habilitantka określiła zawartość i lokalizację tlenu azotu wykorzystując techniki cytochemiczne oraz ekspresję genów kodujących enzymy warunkujące syntezę NO (MtNR1, MtNR2 i MtNIR1) jak i usuwające nadmiar powstałego NO (MtGSNOR1, MtGSNOR2, MtHB1 i MtHB2) oraz obecność białka 3-nitrotyrozyny, który jest markerem stresu nitrozacyjnego w zmikoryzowanych korzeniach lucerny traktowanych glinem, w oparciu o techniki molekularne. W badaniach tych Pani Marzena Sujkowska-Rybkowska wykazała **po raz pierwszy**, obecność tlenu azotu w funkcjonującej mikoryzie na powierzchni struktur grzybowych (arbuskul oraz strzępek), a zwłaszcza wokół degradujących arbuskul. Udokumentowała także, że stres glinowy powoduje powiększanie przestrzeni apoplastycznej wokół arbuskul i jednocześnie mikoryza obniża ilości NO gromadzonego wokół arbuskul w warunkach stresu. Wykazała również, że mikoryza obniża poziom stresu nitrozacyjnego w korzeniach roślin lucerny traktowanych glinem i że nitrowane białka uczestniczą w tworzeniu apoplastowego interfejsu pomiędzy symbiontami.

Podsumowując wyniki badań przedstawionych przez Habilitantkę w cyklu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego chcę podkreślić rolę opisanych przez dr inż. Marzenę Sujkowską-Rybkowską mechanizmów związanych z przebudową apoplastu w brodawkach korzeniowych i mikoryzie roślin bobowatych, które pozwalają przeciwdziałać stresowi glinowemu. Chcę również podkreślić, że poznane i opisane przez dr Marzenę Sujkowską-Rybkowską mechanizmy modyfikacji ścian komórkowych roślin bobowatych, związane ze stresem abiotycznym, niewątpliwie stanowią podstawę w wyborze i praktycznym wykorzystaniu mikrosymbiontów i ich symbiotycznych

gospodarzy, tj. roślin bobowatych, o zwiększonej tolerancji na toksyczne działanie metali, w rekultywacji terenów antropogenicznych skażonych metalami ciężkimi.

#### Ocena pozostałego dorobku naukowego

Dorobek naukowy Pani dr inż. Marzeny Sujkowskiej-Rybkowskiej, po wyłączeniu siedmiu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, to 13 prac anglojęzycznych opublikowanych w recenzowanych czasopismach, notowanych w bazie Web of Sciences i Journal Citation Reports, w tym dwie prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora, a także jedna praca o charakterze przeglądowym w języku polskim. Łączna wartość współczynnika wpływu (IF) tych publikacji (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi 30,086, a sumaryczna liczba punktów, zgodnie z wykazem czasopism naukowych MNiSW, to 715. Prace te były cytowane 59 razy, nie licząc autocytowań. Wiele z tych prac powstało dzięki współpracy z osobami spoza własnego Uniwersytetu, w tym dwie prace w wyniku współpracy z osobami z „Ghent University” (Belgia). Chcę podkreślić, że Habilitantka łatwo nawiązuje współpracę naukową. W roku 2019 nawiązała współpracę z prof. Jaco Vansgrosveld z Faculty of Sciences, Centre for Environmental Sciences, Hasselt University (Belgia). W ramach tej współpracy dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska miała odbyć trzymiesięczny staż w Hasselt University, jednak nie uzyskała finansowania na ten wyjazd.

Chcę również podkreślić, że Habilitantka odbyła pięciomiesięczny staż naukowy w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach (1.10.2018-1.03.2019r). Badania przeprowadzone przez dr inż. Marzenę Sujkowską-Rybkowską, wspólnie z pracownikami Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach, wykazały dużą bioróżnorodność grzybów arbuskularnych kolonizujących korzenie wyizolowanych z podłoży galmanowych i serpentynitowych (analiza sekwencji DNA), wysoką częstotliwość występowania mikoryzy (>90%) w korzeniach *Anthyllis vulneraria* i *Lotus corniculatus* rosnących na hałdzie galmanowej i serpentynitowej jak i wysoką tolerancję badanych szczepów grzybów arbuskularnych na obecność toksycznych metali. Wyniki te były prezentowane na krajowej konferencji (2019) i są, jak pisze Habilitantka, w trakcie publikowania. Stąd wniosek, że doświadczenie nabyte w trakcie stażu naukowego jest bardzo wartościowe i pozytywnie wpływa na rozwój naukowy badacza.

Na dużą aktywność naukową Habilitantki dodatkowo wskazuje Jej udział w 32 naukowych konferencjach krajowych i zagranicznych, na których prezentowała swoje wyniki w formie plakatów i dwóch doniesień ustnych. Jeden poster pt. „Al-induced changes in infection thread growth of pea root nodules” został wyróżniony podczas zjazdu PTB przez Komisję Naukową.

O wysokiej ocenie wiedzy i umiejętności dr inż. Marzeny Sujkowskiej-Rybkowskiej świadczy także powierzenie Jej wykonania dwóch ekspertyz oraz, jak pisze Habilitantka, więcej niż 20 recenzji prac naukowych z bazy JCR (Habilitantka posiada potwierdzenie mailowe 19 przeprowadzonych recenzji).

Ważnym elementem oceny dorobku naukowego jest udział w projektach badawczych. Habilitantka była kierownikiem jednego projektu badawczego (NCN MINIATURA 3) i wykonawcą w dwóch projektach (projekt badawczy promotorski Ministerstwa Nauki i Informatyzacji i projekt NCN Sonata Bis 3). Chcę również wspomnieć, że Habilitantka złożyła sześć wniosków o finansowanie projektów badawczych, ale nie uzyskały one akceptacji.

Podsumowując ocenę dorobku naukowego dr inż. Marzeny Sujkowskiej-Rybkowskiej stwierdzam, że jest on znaczący i w dużym stopniu wzbogacony po uzyskaniu stopnia doktora. Wyniki badań zamieszczone w opublikowanych pracach i prezentowane na zjazdach krajowych i zagranicznych wnoszą istotny wkład do wiedzy o roli przebudowy apoplastu organów symbiotycznych (brodawek korzeniowych i korzeni zmikoryzowanych) roślin bobowatych, jako mechanizmu obronnego przed toksycznym działaniem jonów metali jak i wkład do wiedzy o metabolicznej adaptacji roślin bobowatych do zasiedlania terenów ekstremalnie zanieczyszczonych wysokimi stężeniami metali, takich jak hałdy galmanowe i serpentynitowe oraz o roli endosymbiontów roślin bobowatych w przetrwaniu ich gospodarzy w środowisku silnie skażonym metalami. Uzyskane przez Habilitantkę wyniki wskazują na potencjalną możliwość wykorzystania roślin bobowatych i ich symbiontów w bioremediacji terenów skażonych metalami. Chcę również podkreślić, że sylwetka naukowa Habilitantki jest wyraźnie ukształtowana, a dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska wykazuje umiejętność formułowania i eksperymentalnego rozwiązywania ważnych problemów, co zostało potwierdzone w pracach oryginalnych opublikowanych w czasopiśmie z listy JCR.

#### **Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej**

Z dostarczonych dokumentów wynika, że dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska jest doświadczonym nauczycielem akademickim. Od 2001 roku prowadzi zajęcia dydaktyczne ze studentami studiów stacjonarnych i niestacjonarnych, I i II stopnia na Wydziale Rolnictwa i Biologii oraz Wydziale Ogrodnictwa i Biotechnologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Zajęcia te obejmują następujące wykłady: Survival roślin, Biologia oddziaływań roślin-mikroorganizm, Biologia oddziaływań roślina-patogen, wykłady + ćwiczenia: Ogrody botaniczne i zoologiczne i Symbiozy roślin i mikroorganizmów oraz ćwiczenia: Botanika, Systematyka roślin, Biologia komórki, Biologia komórki roślinnej i Basics of microscopy (zajęcia realizowane w języku angielskim). Habilitantka była promotorem 2 prac magisterskich, 4 prac inżynierskich i 7 prac licencjackich. opiekunem 3 praktyk studenckich realizowanych w Instytucie Biologii SGGW. Kilkakrotnie była opiekunem I roku kierunku Inżynieria ekologiczna oraz Biologia, Wydział Rolnictwa i Biologii SGGW i trzykrotnie opiekunem praktyk studenckich realizowanych w Instytucie Biologii SGGW.

Pani dr inż. Marzena Sujkowska-Rybkowska aktywnie uczestniczy w pracach na rzecz Uczelni i w popularyzacji nauki. Od 2012 roku jest członkiem Komisji Egzaminacyjnej z Praktyk

Zawodowych studentów kierunku Biologia SGGW. Była członkiem Wydziałowej Komisji ds. Hospitacji (2016-2018r), przewodnikiem wycieczek w Ogrodzie Botanicznym PAN w Powsinie (2004- 2006r), prowadziła w 2017 roku cykl zajęć dla przedszkolaków w Przedszkolu Publicznym w Międzyborowie, pt. „Niesamowity świat roślin”.

Habilitantka aktywnie działa w Polskim Towarzystwie Botanicznym (PTB). W latach 2016-2019 była członkiem Głównej Komisji Rewizyjnej PTB, a od 2019 roku jest członkiem Komisji Rewizyjnej Warszawskiego Oddziału PTB.

Podsumowując, stwierdzam, że pozytywnie oceniam działalność dydaktyczną i organizacyjną dr inż. Marzeny Sujkowskiej-Rybkowskiej jak i popularyzowanie nauki.

#### **Wniosek końcowy**

Szczegółowa analiza osiągnięcia naukowego dr inż. Marzeny Sujkowskiej-Rybkowskiej oraz całego dorobku naukowego pozwala mi stwierdzić, że dorobek naukowy Habilitantki stanowi znaczący wkład w rozwój dziedziny nauk rolniczych, dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Habilitantka jest doświadczonym badaczem, który widzi problemy badawcze, potrafi je rozwiązywać i wprowadza uzyskane wyniki do międzynarodowego obiegu poprzez ich publikowanie w czasopiśmie z bazy JCR.

Uważam, że cała działalność naukowa, dydaktyczna i organizacyjna spełnia kryteria określone w stosownej ustawie i może być podstawą do nadania dr inż. Marzenie Sujkowskiej-Rybkowskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego. Wnoszę zatem, do Rady Dyscyplinarnej Rolnictwo i Ogrodnictwo SGGW w Warszawie, wniosek o nadanie Pani dr inż. Marzenie Sujkowskiej-Rybkowskiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

  
prof. dr hab. Wanda Małek