

Dr hab. Agata Daszkowska-Golec, prof. UŚ  
Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska  
Wydział Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Śląski w Katowicach  
Jagiellońska 28  
40-032 Katowice  
Tel. 0322009360  
[agata.daszkowska@us.edu.pl](mailto:agata.daszkowska@us.edu.pl)

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
mgr Magdaleny Skórki  
pt. "Analiza zmian biochemiczno-strukturalnych rejestrowanych pomiędzy wrażliwymi i  
tolerancyjnymi odmianami zbóż pod wpływem toksyczności jonów Mn"**

#### **Przedmiot rozprawy i jego naukowe znaczenie**

Praca doktorska Pani mgr Magdaleny Skórki dotyczy badania wpływu manganu (Mn) na rośliny, szczególnie w kontekście jego nadmiaru w środowisku. Kandydatka do stopnia doktora zwraca uwagę na różnice w tolerancji roślin uprawnych na Mn i potencjalne wykorzystanie selenu (Se) jako związku protekcyjnego, mogącego łagodzić stres oksydacyjny i zwiększać jakość oraz ilość plonów. Praca jest istotna, ponieważ oferuje alternatywę dla chemicznych środków ochrony roślin i może pośrednio przyczynić się do poprawy zdrowia ludzkiego poprzez wzbogacenie diety w Se. Analizy skupiały się na zbożach, z pszenicą jako najbardziej odpornym gatunkiem na Mn. Na szczególne podkreślenie zasługuje podjęta próba możliwości modulowania reakcji roślin na toksyczne stężenia Mn za pomocą Se.

Rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Skórki przedstawiona mi do recenzji w formie monografii została wykonana pod kierunkiem Pani Prof. UP dr hab. Apolonii Sieprawskiej w Katedrze Biochemii i Biofizyki, w Instytucie Biologii i Nauk o Ziemi, Wydziału Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie. Część wyników przedstawionych w recenzowanej monografii została już opublikowana w czasopismach naukowych tj. *Agronomy* (2020), *Plant Soil* (2021) i *Journal of Plant Growth Regulation* (2022). Doktorantka jest pierwszą autorką każdej z tych prac.

#### **Formalna i merytoryczna ocena rozprawy**

Dysertacja Pani mgr Magdaleny Skórki została przygotowana jako monografia, obejmująca 124 strony maszynopisu ze strukturą rozdziałów typową dla prac naukowych z zakresu nauk przyrodniczych. Monografia spełnia wymogi formalne stawiane pracom badawczym. Zasadniczy tekst monografii poprzedzony jest szczegółową *Listą skrótów* oraz *Streszczeniami* (w języku polskim i angielskim). W Streszczeniach Autorka w sposób przejrzysty ujmuje sedno przeprowadzonych badań.

Kolejnym rozdziałem jest *Wstęp*, stanowiący przegląd literatury, liczący 30 stron. Lektura wstępnej części pracy wskazuje, że Doktorantka posiada wiedzę w zakresie tematyki prowadzonych badań. Treści przedstawione w tej części rozprawy oceniam jako właściwie dobrane i wyczerpujące w kontekście tematyki rozprawy doktorskiej. Tekst został przygotowany w oparciu o liczną (300 pozycji!) literaturę anglojęzyczną.

Uwagę zwraca jednak, że stosunkowo niewiele cytowanych prac (38, a więc ok. 12% całości) pochodzi z ostatnich 5 lat.

Rozdział *Cel pracy* jasno precyzuje zasadność podejmowanych badań i uzasadnia dobór metodyki. Autorka klarownie definiuje nadrzędne cele pracy, dzieląc tym samym plan pracy na dwie zasadnicze części, odpowiadające później przytoczonym pracom eksperymentalnym. Każdy z celów nadrzędnych podzielony został na cele bardziej szczegółowe, wyznaczające kierunek badań i eksperymentów. **W mojej ocenie tak szczegółowe ujęcie celów badawczych obrazuje przede wszystkim umiejętność planowania eksperymentów i świadczy o samodzielności w prowadzeniu badań przez Kandydatkę do stopnia naukowego doktora. Niemniej jako niewątpliwy mankament tej części rozprawy zauważam brak zdefiniowanej hipotezy badawczej nadającej ton dalszym krokom podejmowanym w dysertacji.**

Nadrzędne cele rozprawy wytyczone przez Doktorantkę zakładały:

1. wykazanie różnic w działaniu jonów Mn w dawce toksycznej na siewki jarych zbóż, różniących się wrażliwością na czynniki stresowe oraz
2. sprawdzenie czy jony selenu mogą niwelować/ zmniejszać skutki wywołane ekspozycją na zwiększone stężenia jonów manganu, poprzez stymulację mechanizmów obronnych komórek w podobnym stopniu jak w przypadku zastosowania innych czynników stresogennych, w tym metali ciężkich

Następnie Doktorantka przechodzi do opisu przeprowadzonych badań w rozdziale *Materiały i Metody*. **Doktorantka przeprowadziła imponującą serię dobrze zaplanowanych eksperymentów, które doprowadziły do osiągnięcia wszystkich zaplanowanych celów. Dobór eksperymentów jest dobrze przemyślany i świadczy zarówno o doskonałym opanowaniu warsztatu przez Doktorantkę, jak i znajomości metod badawczych i umiejętności ich wykorzystania.** Do badań wykorzystano trzy gatunki roślin uprawnych, tj. jęczmień, pszenicę i owies. W opisie materiału biologicznego poza wskazaniem wybranych do badań odmian oraz zdawkowej charakterystyki (wrażliwy/tolerancyjny) Autorka nie wprowadziła bardziej szczegółowych danych (co wzbudza moje szczególne zdziwienie brak tych informacji również w publikacjach w czasopiśmie naukowych opublikowanych w ramach tej dysertacji). **W tym miejscu zwracam się do Doktorantki z prośbą o przybliżenie tych informacji w trakcie obrony pracy doktorskiej, precyzując: chodzi mi o informacje na temat pochodzenia geograficznego i genetycznego (w miarę możliwości) odmian, a także uszczegółowienie informacji dotyczących ich charakterystyki w kontekście odpowiedzi na stres abiotyczny, która została wzmiankowana w tekście dysertacji lakonicznie jako 'wrażliwa/tolerancyjna'. W tym miejscu również proszę o uzasadnienie wyboru tychże gatunków i odpowiednich odmian.**

Ponadto w tym samym rozdziale Autorka wspominając o wybranych do traktowań koncentracjach roztworu  $MnCl_2$  winna była nakreślić zasadność wykorzystania tychże. Pozostaje domyślać się tylko, że koncentracje dobrano eksperymentalnie w toku wcześniejszych badań. Kandydatka do stopnia doktora wspomina, że „ziarna kontrolne hodowane były”, co wydaje się oczywistym przeoczeniem i skrótem myślowym. W mojej opinii jednak rozprawa doktorska nie jest miejscem na tego typu przeoczenia. Kolejnym niedopatrzaniem jest w tym samym rozdziale, omyłkowe, jak sądzę, stwierdzenie, że „Rośliny kontrolne podlewano codziennie 50 % pożywką wg Hoaglanda (50 ml/ 1 donica) oraz w/w medium zawierającym 5 i 10 mM  $MnCl_2$ ”. W rozdziale 3.1.3 Doktorantka odsyła czytelnika do schematu podanego w rozdziale 3.2, który miałby obrazować/opisywać sterylizację i kiełkowanie nasion. Jednakże, odwołanie to prowadzi do błędnie wskazanego miejsca, bowiem w rozdziale 3.2 znajduję informację na temat oznaczania enzymów antyoksydacyjnych. Dalej w tym samym podrozdziale (3.1.3) Doktorantka pisze o zważeniu tkanki, co wydaje się kolejnym skrótem myślowym.

Rozdział *Wyniki* został podzielony na dwie zasadnicze części, co zresztą zaznaczono tytułując tak główne podrozdziały (np. 4.1. *Pierwsza część badań*; 4.2. *Druga część badań*), co akurat w mojej opinii jest chybionym pomysłem, gdyż nie informuje czytelnika czego dotyczy dany podrozdział, kolejne podrozdziały mają równie mało informatywne tytuły). Rozdział *Wyniki* zilustrowano 14 rycinami oraz dwoma tabelami. Wizualizacja danych jest poprawna, ale nie stanowi elementu przyciągającego oko, atrakcyjnego graficznie. Mam również zastrzeżenie do fotografii dotyczących analiz mikroskopowych (precyzując chodzi o Figury 19-23), dotyczące braku graficznej reprezentacji zastosowanej skali, co jest normą w tego typu ilustracjach (nie znalazłam również skali w publikacjach dotyczących tychże wyników).

Ze względu na fakt, że część prezentowanych w dysertacji badań została już opublikowana w czasopismach o międzynarodowym zasięgu, po uprzednim poddaniu ich rygorystycznej ocenie przez panel ekspertów - recenzentów i edytorów - krótko podsumuję tylko najważniejsze wyniki raportowane w rozprawie doktorskiej (w części niniejszej recenzji, którą tytułuję 'Najważniejsze uzyskane wyniki'). Przeprowadzone badania i wnioski z nich płynące wzbudziły oczywiście moją naukową ciekawość, z czego wynikają pytania, które zamieszczam w dalszej części niniejszej recenzji 'Uwagi i pytania'.

*Dyskusja* obejmuje 11 stron maszynopisu i stanowi staranne uzupełnienie i komentarz do poprzedniego rozdziału *Wyniki*, sprawia to, że stawia uzyskane rezultaty w szerszym kontekście, systematyzując je i odpowiednio interpretując.

Rozdział ostatni rozprawy stanowi w większości podsumowanie uzyskanych wyników, bardziej niż zestawienie płynących z nich wniosków. Mimo, że tytuł tegoż – *Wnioski* – sugeruje raczej interpretację uzyskanych wyników niż ich podsumowanie. W definicji wniosku (a więc „interpretacje danych i obserwacji, które wyciąga się na zakończenie eksperymentu lub serii eksperymentów. Stanowią one syntezę wyników i często wskazują na ich znaczenie dla dalszych badań, teorii, lub praktycznych zastosowań”) w mojej opinii mieszczą się wnioski, którym Autorka nadała odpowiednio numery: i, vi, vii, viii, ix, x. **W tym miejscu uprzejmie proszę Kandydatkę do stopnia doktora o odniesienie się do tej uwagi w czasie obrony pracy doktorskiej i zaprezentowanie wniosków płynących z uzyskanych w ramach badań wyników.**

### Najważniejsze uzyskane wyniki

Podsumowując za najważniejsze odkrycia naukowe pracy doktorskiej magister Magdaleny Skórki uważam te dotyczące konkretnych procesów/parametrów fizjologicznych, które obrazują odpowiedź roślin uprawnych na stres manganowy, a które listuję poniżej:

- **Zmiany w zawartości chlorofilu:** Wprowadzenie Mn do środowiska wywołało redukcję koncentracji chlorofilu, a w przypadku pszenicy i jęczmienia dodatkowo, z wyraźnym zróżnicowaniem w zależności od dawki Mn i genotypu (wrażliwy vs tolerancyjny). Efekty te wskazują na genotypową specyfikę odpowiedzi fotosyntetycznej roślin na stres manganowy.
- **Wskaźniki stresu oksydacyjnego:** Podwyższone poziomy malondialdehydu (MDA) i nadtlenku wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) wskazywały na intensyfikację peroksydacji lipidów i stresu oksydacyjnego pod wpływem Mn. Jednakże aplikacja Se razem z Mn łagodziła te procesy, redukując akumulację MDA i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, co sugeruje potencjalną rolę Se jako modulatora stresu manganowego.
- **Metabolizm proliny:** Obserwowano indukcję syntezy proliny oraz aktywności enzymów związanych z jej metabolizmem w odpowiedzi na Mn. Zastosowanie Se w warunkach stresu manganowego wywołało obniżenie aktywności enzymu P5CS, co może świadczyć o roli Se w homeostazie proliny w warunkach stresu.

- **Potencjały antyoksydacyjne:** Stres manganowy wywoływał wzrost potencjału antyoksydacyjnego, mierzony DPPH, FRAP i TAC. Suplementacja Se, zarówno w obecności Mn jak i wyłącznie Se, modyfikowała zdolności antyoksydacyjne roślin, podkreślając rolę Se w ochronie antyoksydacyjnej.
- **Dystrybucja manganu i selenu:** Mn był intensywnie akumulowany w tkankach roślinnych, ze znacznym wzrostem w liściach i korzeniach. Se wpłynął na modulację poziomu Mn, ograniczając jego obecność w korzeniach, co wskazuje na jego potencjalną rolę w regulacji homeostazy manganu.
- **Zawartość makroelementów i mikroelementów:** Mn powodował obniżenie zawartości makroelementów i mikroelementów, co może odzwierciedlać zmiany w gospodarce mineralnej roślin wywołane toksycznością manganu. Interakcje Se z Mn wpływały na koncentracje poszczególnych pierwiastków, co może świadczyć o kompleksowym wpływie Se na gospodarkę mineralną w kontekście stresu manganowego.
- **Polifenole:** Stres manganowy indukował zwiększoną syntezę polifenoli, co może być interpretowane jako część mechanizmu obronnego roślin. Suplementacja Se modulowała ten efekt, potencjalnie przez wpływ na ścieżki syntezy sekundarnych metabolitów.

Te wyniki eksponują złożoność odpowiedzi roślin na stres manganowy oraz potencjalne korzystne działanie selenu jako modulatora tego stresu, co może mieć dalekosiężne implikacje dla rolnictwa i biotechnologii roślinnej. Nie mam zatem wątpliwości, że uzyskane i opisane w rozprawie mgr Magdaleny Skórki wyniki są bardzo istotne. Pozwalają one na lepsze zrozumienie odpowiedzi roślin na poziomie molekularnym, ale także morfologicznym na toksyczne działanie jonów manganu, a co więcej otwierają możliwości wykorzystania związków selenu w celu biofortyfikacji upraw. **Doktorantka udowodniła, że potrafi samodzielnie prowadzić badania naukowe, jak i rozwiązała oryginalny problem naukowy.**

#### Uwagi i pytania

W szczególności chciałabym przedyskutować z Doktorantką podczas obrony rozprawy doktorskiej następujące kwestie:

1. Proszę o wyjaśnienie i uzasadnienie doboru koncentracji roztworów  $MnCl_2$  wybranych do traktowań
2. W dysertacji doktorskiej Doktorantka prezentuje szerokie spektrum otrzymanych danych. Brak jednak ich syntezy i integracji, która w sposób przejrzysty umożliwiłaby interpretację uzyskanych rezultatów. **Proszę Doktorantkę o próbę integracji tych danych i próbę zaprezentowania w ten sposób kluczowych wyników swojej pracy badawczej, w czasie obrony.**
3. Wielokrotnie w tekście rozprawy doktorskiej Doktorantka stosuje pojęcia hodowla, kiedy w praktyce pisze o uprawie (np. tytuły podrozdziałów w sekcji Materiały i Metody: Hodowla wazonowa, Hodowla hydroponiczna). **Chciałabym prosić Doktorantkę o komentarz na podstawie wiedzy wynikającej z literatury czym jest uprawa a czym hodowla, szczególnie w kontekście roślin uprawnych.**
4. Wykorzystanie rozmaitych związków chemicznych, hormonów bądź wcześniej ekspozycji na stresy przed wystąpieniem właściwego jest obecnie trendem w badaniach w nurcie z angielskiego 'primingu'. **Proszę Doktorantkę o odniesienie się do tego zjawiska w kontekście uzyskanych wyników w traktowaniu selenem oraz związkami manganu. Czy można mówić o uniwersalności odpowiedzi zbóż na takie traktowanie i czy Doktorantka widzi możliwość w przyszłości bardziej aplikacyjnych badań w tym nurcie.**

Poza kwestiami merytorycznymi, które wyłoniły się w następstwie zapoznania się z badaniami przedstawionymi w rozprawie, pragnę również przedstawić kilka uwag redakcyjnych do niniejszego dokumentu, który ogólnie rzecz biorąc, jest sporządzony poprawnie. Poniżej przedstawiam je w formie uporządkowanej listy. Podkreślam jednocześnie, że te redakcyjne spostrzeżenia są niewielkie i nie osłabiają w żadnym stopniu wartości naukowej pracy.



Mimo, że rozprawa doktorska i załączone publikacje charakteryzują się wysokim poziomem staranności i poprawnie przygotowanymi wizualizacjami otrzymanych wyników, Autorka nie uniknęła także błędów edycyjnych, semantycznych, które jako wybrane z obowiązku Recenzenta przytaczam poniżej:

*Str. 88 Doktorantka pisze o odmianach winogrona, co jest oczywistym błędem i zapewne skrótem myślowym; wielokrotnie w tekście dysertacji stosowany jest termin 'obiekt' jednakże odnosi się albo do testowanych wariantów traktowań roślin albo do genotypów, co jest mylące i powinno zostać uporządkowane.*

### Wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Skórki stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Po wnikliwym zapoznaniu się z dysertacją stwierdzam, że Kandydatka do stopnia naukowego doktora prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną w obszarze badawczym, który stanowił zagadnienie badane w Jej dysertacji, a także niewątpliwie wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Przedstawione w recenzji uwagi mają zasadniczo charakter techniczny lub wynikają z ciekawości naukowej recenzenta.

**Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Skórki pt. "Analiza zmian biochemiczno-strukturalnych rejestrowanych pomiędzy wrażliwymi i tolerancyjnymi odmianami zbóż pod wpływem toksyczności jonów Mn" spełnia wszystkie wymogi określone w art. 187 ust. 1-2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i nauce (Dz.U. 2023 poz. 742).**

W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Biologii i Nauk o Ziemi, Wydziału Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr. Magdaleny Skórki do dalszych etapów przewodu w sprawie nadania stopnia naukowego doktora nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie nauk biologicznych.

Dr hab. Agata Daszkowska-Golec, prof. UŚ

