



Dr hab. Paweł Wydro, prof. UJ
UNIwersytet Jagielloński w Krakowie, Wydział Chemii
Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii
Zespół Fizykochemii Powierzchni
ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków
tel. (12) 686-25-19
e-mail: wydro@chemia.uj.edu.pl

Kraków, 18.06.2019

***Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Barbary Dyba
pt. „Strukturalno-funkcjonalne modyfikacje membran komórek pszenicy w układach
naturalnych i modelowych w warunkach stresu oksydacyjnego wywołanego działaniem
mykotoksyny (zearalonu)”***

Jednymi z najbardziej uciążliwych chorób roślin powodującymi znaczne straty w światowej produkcji żywności są te powodowane przez patogeny grzybowe. Wiele z nich nie tylko pozbawia rośliny substancji odżywczych, budulcowych i wody, lecz także dodatkowo wytwarza szkodliwe mykotoksyny. Akumulacja mykotoksyn w tkankach roślinnych prowadzi do zmniejszenia ilości i jakości upraw roślinnych i dodatkowo stanowi poważne zagrożenie dla spożywających je zwierząt i ludzi. Jedną z takich toksyn, produkowaną przez niektóre gatunki grzybów z rodziny *Fusarium*, jest zearalenon (ZEA), który powoduje między innymi znaczne obniżenie plonów zbóż. Powszechnie wiadomo, że zearalenon akumuluje się w komórkach roślin jednakże dokładny mechanizm jego działania nie został w pełni wyjaśniony. Duże wyzwanie stanowi zatem poznanie tego mechanizmu, co pozwoliłoby na opracowanie metod służących zminimalizowaniu skutków ubocznych działania tej toksyny. W ten właśnie nurt badawczy wpisuje się tematyka badań realizowanych w ramach recenzowanej pracy doktorskiej.

Praca doktorska mgr Barbary Dyba wykonana została w Zakładzie Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii w Instytucie Biologii Wydziału Geograficzno-Biologicznego Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie pod kierunkiem prof. dr hab. Marii Filek oraz dr Elżbiety Rudolphi-Skórskiej, która pełniła funkcję promotora pomocniczego.

Rozprawa doktorska zredagowana została w języku polskim, na 108 stronach maszynopisu z zachowaniem klasycznego i przejrzystego podziału na przegląd literaturowy i część eksperymentalną, uzupełnione o cel pracy, wnioski, wykaz stosowanych skrótów i symboli, spis cytowanej literatury oraz streszczenia w języku angielskim i polskim.

Część literaturowa pracy stanowi zwięzłe wprowadzenie do badań własnych Autorki. Liczący 21 stron przegląd literaturowy mgr Barbara Dyba podzieliła na pięć podrozdziałów. Pierwszy z nich poświęcony jest pochodzeniu nazwy mykotoksyny i fizykochemicznym właściwościom zearalenonu. W drugim podrozdziale Autorka omówiła czynniki sprzyjające fuzariozie i zdolności akumulacyjne ZEA w komórkach roślinnych. Podrozdział trzeci dotyczy natomiast wpływu ZEA na komórki ludzkie i zwierzęce. W kolejnym z podrozdziałów omówiono zjawisko stresu oksydacyjnego jako jednego z etapów działania czynników stresogennych. Podrozdział piąty obejmuje charakterystykę ewolucyjnie wykształconych systemów ochronnych roślin ze szczególnym uwzględnieniem enzymatycznych i nieenzymatycznych substancji ochronnych, a podrozdział szósty dotyczy brassinosteroidów stosowanych jako substancje ochronne roślin w warunkach stresowych. Ostatnie trzy podrozdziały pracy Autorka poświęciła omówieniu budowy i właściwości fizykochemicznych biomembran oraz układów modelowych (kultu *in vitro* i monowarstw Langmuira) stosowanych w jej badaniach własnych.

Część literaturowa pracy przygotowana została w oparciu o 249 pozycji bibliograficznych z czego przeważającą część stanowią prace, które ukazały się po 2000 roku. Prezentowane w tej części pracy zagadnienia zostały jasno i dość wyczerpująco omówione, co pozwala mi stwierdzić, że Doktorantka posiada dobrą znajomość aktualnego stanu wiedzy w obszarze związanym z tematyką badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej.

Część eksperymentalna pracy poprzedzona jest krótkim rozdziałem, w którym Doktorantka przedstawiła szczegółowo cel swoich badań i nakreśliła plan jego osiągnięcia. Osobiście uważam, że znacznie lepiej byłoby gdyby rozdział ten stanowił element wprowadzenia pojawiającego się na samym początku pracy, co stanowiłoby doskonałe wprowadzenie i uzasadnienie dla treści pojawiających się w części literaturowej rozprawy. Uwaga ta nie ma jednak charakteru zarzutu formalnego, gdyż jak wiadomo jest to bardzo subiektywna ocena, która w znacznym stopniu zależy od upodobań czytelnika.

W drugiej, eksperymentalnej części pracy mgr B. Dyba przedstawiła stosowane materiały i odczynniki, opisała sposób przygotowania materiału roślinnego a także metody oznaczania poszczególnych substancji chemicznych. W kolejnych rozdziałach tej części pracy mgr Barbara Dyba w sposób bardzo przejrzysty i jasny zaprezentowała wyniki swoich badań i przeprowadziła ich dyskusję wyprowadzając jednocześnie szereg wniosków o dużej wartości naukowej. Moją uwagę zwraca rozdział zatytułowany *Dyskusja*, w którym Autorka nie tylko omówiła wyniki badań własnych, lecz również odniosła je do rezultatów badań innych autorów. Warto również podkreślić, że wyniki otrzymane w ramach niniejszej pracy doktorskiej

poszerzają wiedzę w zakresie mechanizmu toksycznego działania zearalenonu. Znajduje to swoje potwierdzenie w rozdziale 6, w którym Autorka sformułowała najważniejsze wnioski płynące z Jej badań. Moim zdaniem na szczególne podkreślenie zasługują następujące wyniki:

1. Wykazanie, że odmianowa wrażliwość na stresogenne działanie ZEA wynika z różnic w akumulacji tej toksyny w obrębie komórek roślinnych.
2. Wykazanie, że głównym czynnikiem determinującym akumulację ZEA w biomembranach roślinnych jest stopień nasycenia łańcuchów hydrofobowych lipidów.
3. Udowodnienie, że jednym z naturalnych mechanizmów protekcyjnych na działanie ZEA jest modyfikacja składu i struktury membran komórkowych.
4. Wykazanie, że 24-epibrassinolid może być zastosowany jako substancja ochronna dla roślin wzrastających w warunkach stresu wywołanego przez ZEA, co związane jest z jego konkurencyjną (w stosunku do ZEA) akumulacją w komórkach.

Warto również zwrócić uwagę na staranne przygotowanie pracy przez Autorkę, które przejawia się w jakości przedstawionych rysunków, tabel i schematów. W trakcie lektury pracy napotkałem kilka błędów, z których najistotniejszy znajduje się na stronie 27. Opisując zmiany stanu monowarstwy wywołane jej kompresją, Autorka napisała „...i są ustawione pod różnym **kontem**...”. Jak rozumiem Autorka miała na myśli orientację cząsteczek na granicy międzyfazowej i związany z tym kąt pomiędzy osią główną cząsteczki i granicą faz. Pozostałe błędy miały charakter literówek i nie będę tu ich nawet wymieniał gdyż uważam, że w tego typu opracowaniach są one właściwie nie do uniknięcia. Jednocześnie, z obowiązku recenzenta, chciałbym wskazać pewne nieścisłości i sformułować kilka uwag polemicznych:

1. Na stronie 40, Autorka napisała: „Platynowa płytką Wilhelmy’ego stanowiła element stały, na który wynoszone były lipidy...”. To zdanie jest błędne – płytką Wilhelmy’ego jest elementem urządzenia służącego pomiarom ciśnienia powierzchniowego (lub napięcia powierzchniowego) związanym ze zmianą gęstości upakowania cząsteczek na subfazie wodnej w trakcie kompresji monowarstwy.
2. Moim zdaniem definicja parametru π_{col} przedstawiona na stronie 41 jest niejasna.
3. W jaki sposób obliczano wartości C_5^{-1} – ile punktów izotermi π -A uwzględniano?

4. Co Autorka rozumie przez określenia: „...większe nienasycenie komórek odmiany wrażliwej...”? (str. 71) oraz „...powodującym konieczności „użycia” większego ciśnienia do kompresji tych lipidów w monowarstwę.” (str. 78)
5. Na stronie 79 Autorka napisała „Zależności ΔG^{exc} ... wyznaczono dla zakresu napięć międzyfazowych...(5, 10, 20 i 30 mN/m)...”. Określenie to jest nieściśle gdyż Autorka podała wartości ciśnienia powierzchniowego.

Przedstawione powyżej uwagi, pytania i komentarze w żaden sposób nie umniejszają wartości merytorycznej pracy i nie wpływają na moją, zdecydowanie pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej, a mają jedynie służyć dyskusji i dalszemu rozwojowi naukowemu Doktorantki. Dlatego, w mojej ocenie praca doktorska Pani mgr Barbary Dyba pt. *„Strukturalno-funkcjonalne modyfikacje membran komórek pszenicy w układach naturalnych i modelowych w warunkach stresu oksydacyjnego wywołanego działaniem mykotoksyny (zearalonu)”* spełnia wszystkie zwyczajowe i prawne kryteria stawiane pracom doktorskim zgodnie z artykułem 13 ustawy z dn. 14.03.2003 z późniejszymi zmianami *O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki* (Dz. U. z 2016 r. poz. 882 ze zmianą w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311) i wnioskuję do Rady Instytutu Biologii Wydziału Geograficzno-Biologicznego Uniwersytetu Pedagogicznego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Paweł Wydro