

Dr hab. Maciej T. Grzesiak, prof. nadzw. IFR PAN
Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego
Polska Akademia Nauk w Krakowie
ul. Niezapominajek 21
30-239 Kraków

Recenzja pracy doktorskiej

Pani mgr Izabeli Anna Samborskiej-Skutnik

pt. ” Wydajność kwantowa fotoukładu II roślin rzodkiewki (*Raphanus sativus* L.)
rosnących w warunkach niedoboru wybranych składników mineralnych”

Praca doktorska została wykonana w Katedrze Fizjologii Roślin, Wydziału Rolnictwa i Biologii, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pod kierunkiem dr hab. Mohameda Hazema Kalaji, prof. nadzw. SGGW, a promotorem pomocniczym był dr Leszek Sieczko. Praca została przygotowana i przedstawiona do oceny na podstawie opublikowanych artykułów, które stanowią integralną część rozprawy.

Dokumentacja pracy została opracowana w formie załączników obejmujących:

1. Omówienie wyników na tle obecnego stanu wiedzy (przegląd piśmiennictwa i cel badań),
2. Omówienie wyników przedstawionych w 3 publikacjach:
 - Structural and functional disorder in the photosynthetic apparatus of radish plants under magnesium deficiency (2018). Samborska I.A., Kalaji H.M., Sieczko L., Goltsev V, Borucki W., Jajoo A *Functional Plant Biology* 45: 668-679.
 - Can just one-second measurement of chlorophyll a fluorescence be used to predict sulphur deficiency in radish (*Raphanus sativus* l. sativus) plants? (2018) Samborska I.A., Kalaji H.M., Sieczko L., Borucki W., Mazur R., Kouzmanova M., Goltsev V. *Current Plant Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2018.12.002>
 - Structural and functional response of photosynthetic apparatus of radish plants to iron deficiency. (2019) Samborska I.A., Sieczko L., Kalaji H.M., Bąba W. *Photosynthetica* ID: 2064-10-2018)
3. Podsumowanie
4. Literatura
5. Dokumentacja fotograficzna doświadczeń
6. Aneks zawierający: artykuły stanowiące rozprawę doktorską oraz oświadczenia współautorów artykułów, wykaz artykułów opublikowanych w trakcie studiów doktoranckich istotnych dla dorobku naukowego i elektroniczną wersję rozprawy doktorskiej na płycie CD.

Autorka wykonała swoje badania w Katedrze Fizjologii Roślin SGGW w Warszawie. Katedra powstała w 1921 roku, a obecnie jest jednym z najlepszych krajowych ośrodków badawczych. Niewątpliwie podstawą do sformułowania tematu pracy i celów badawczych był fakt, że badania były wykonywane w zespole o wysokiej pozycji zarówno w krajowym jak i europejskim środowisku naukowym. Tę wysoką pozycję naukową Katedra Fizjologii Roślin SGGW zawdzięcza profesorowi Emilowi Malborczykowi, wybitnemu uczonemu i organizatorowi nauki oraz profesorom pracującym w tym zespole m. in. profesor Zofii Starck jak i promotorowi tej rozprawy profesorowi Hazemowi M. Kalaji. W przeprowadzonych doświadczeniach Autorka wykorzystwała możliwości warsztatu badawczego jaki miała do dyspozycji, a przede wszystkim dostęp do nowoczesnych metod badawczych porównywalnych ze stosowanymi w badaniach prowadzonych w laboratoriach zagranicznych. Ponadto miała dostęp do nowoczesnej aparatury analityczno-pomiarowej o bardzo wysokim stopniu zaawansowania, co niewątpliwie miało wpływ na rzetelność uzyskanych wyników pomiarów i analiz.

Uwagi szczegółowe do pracy doktorskiej

W rozdziale zatytułowanym „Przegląd piśmiennictwa” Autorka na podstawie danych literaturowych przedstawia problematykę podjętych badań. Autorka charakteryzuje obecny stan wiedzy oraz zamieszcza informacje dotyczące botanicznych i fizjologicznych cech wybranego do badań gatunku. Cytowana literatura wskazuje na dobrą znajomość problematyki badań prowadzonych przez krajowe i zagraniczne ośrodki naukowe. Lektura tego rozdziału wskazuje na aktualność i usytuowanie podjętej tematyki badawczej. Zwraca także uwagę na problemy, które obecnie nie są w pełni poznane i wyjaśnione. Lektura tego rozdziału pozwala czytelnikowi wyrobić sobie opinię co do słuszności podjęcia badań.

Do doświadczeń Autorka wybrała 3 pierwiastki (magnez, siarka, żelazo) będące składnikami mineralnego żywienia roślin. Magnez jest pierwiastkiem, który bierze udział w reakcji fosforylacji i defosforylacji, stabilizuje struktury nukleotydów oraz jest niezbędny do funkcjonowania enzymów (ATP-aza, kineza białkowa, fosfataza, karboksylaza, dysmutaza ponadtlenkowa). Niedobór magnezu jest jednym z głównych czynników wpływających na obniżenie plonu roślin. Jest centralnym jonem cząsteczki chlorofilu i jest łatwo transportowany do chloroplastów, a tam wykorzystywany do powstawania kompleksów białkowo-barwnikowych w PSII i PSI. Siarka jest elementem wchodzącym w skład wielu białek oraz enzymów i występuje najczęściej w formie sulfhydrylowych grup m.in. w cysteinie oraz metioninie. Warunkuje syntezę ferredoksyny, która jako składnik chloroplastów, bierze udział w procesie fotosyntezy, w fosforylacji cyklicznej oraz niecyklicznej. Sugeruje się, że niedobór siarki u roślin hamuje transport elektronów poza PSI, gdyż zmniejsza się wtedy aktywność PSI, co prowadzi do zaburzeń w funkcjonowaniu centrów żelazowo-siarkowych w chloroplastach. Pomimo, iż siarka jest podstawowym i niezbędnym składnikiem w mineralnym żywieniu roślin, to wpływ jej niedoboru na wydajność fotosyntetyczną nie został jeszcze dobrze poznany. Żelazo najczęściej

pobierane jest przez rośliny w formie nierozpuszczalnej w wodzie Fe(III). System korzeniowy pobiera żelazo poprzez dyfuzję, co w dużej mierze zależne jest od aktywności korzeni i ich kondycji fizjologicznej. Żelazo jest mikroskładnikiem niezbędnym do wzrostu i rozwoju roślin. Bierze udział w oddychaniu komórkowe i biosyntezie chlorofilu. Żelazo jest kofaktorem enzymów biorących udział w transporcie elektronów i w procesach przenoszenia tlenu np. na cytochrom bierze udział w syntezie DNA oraz hormonów roślinnych.

W podrozdziale zatytułowanym "Cel pracy" Autorka omawia główne założenia podjętej tematyki, których celem było określenie przemian energetycznych w aparacie fotosyntetycznym, jego wydajności oraz zmian strukturalnych kompleksów białkowo-barwnikowych u rzodkiewki w warunkach niedoboru magnezu, siarki i żelaza. Hipoteza badawcza zakładała, że niedobory badanych składników mineralnych wpływają na wydajność fotosyntezy oraz strukturę aparatu fotosyntetycznego już we wczesnym etapie działania stresora oraz, że ich niedobór w specyficzny sposób wpływa na wydajność i strukturę aparatu fotosyntetycznego.

W rozdziale „Materiał i Metody” Autorka podaje informacje o badanych gatunkach i odmianach, warunkach doświadczeń, schematach i obiektach oraz metody stosowane w przeprowadzonych pomiarach i analizach. W ostatnich latach pomiar fluorescencji chlorofilu stał się popularną metodą oceny wpływu czynników stresowych na fotosyntezę. Jest to prosta, niedestrukcyjna, tania i szybka metoda pomiarowa, która pozwala badać przebieg reakcji fazy fotosyntezy zależnej od światła, a także pośrednio oszacować zawartość chlorofilu. Udoskonalone techniki pomiarów fluorescencji chlorofilu umożliwiają badania na różnych poziomach funkcjonalnych fotosyntezy, a pośrednio określać stan fizjologiczny badanych roślin. Autorka, w ramach wykonywania pracy doktorskiej, przyczyniła się do ulepszenia metodyki badań, bazującej na pomiarze fluorescencji chlorofilu *a* i samodzielnym obliczeniu parametrów testu JIP umożliwiającej precyzyjne określenie wpływu konkretnego stresora na działanie aparatu fotosyntetycznego roślin rzodkiewki. W pracy została także przedstawiona nowatorska metoda przygotowania pożywki płynnej, optymalnej dla roślin rzodkiewki w uprawie hydroponicznej z zastosowaniem pelletu polietylenowego, który nie wchodzi w reakcje chemiczne z zastosowaną pożywką, jako alternatywnego materiału do hodowli roślin.

W rozdziale „Wyniki” Autorka wykazała, że założony cel badań był konsekwentnie realizowany. Dołączona dokumentacja, którą Autorka tu prezentuje, jest starannie opracowana, strona opisowa jest przejrzysta, a stosowane w badaniach metody statystyczne prawidłowe. Ten rozdział rozprawy Autorka podzieliła na 3 podrozdziały, w których omawia wyniki 3 publikacji.

Autorka wykazała, że niedobór różnych składników mineralnych jest ważnym czynnikiem stresowym zaburzającym funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego roślin, a w konsekwencji powoduje obniżenie ich plonu. Określenie niekorzystnego wpływu braku lub obniżonej zawartości

składników mineralnych w glebie oparto na nieinwazyjnych pomiarach takich jak parametry fluorescencji chlorofilu *a*, które umożliwiają nie tylko śledzenie zmian w reakcjach zachodzących w procesie fotosyntezy, ale również ich przewidywanie. W ramach pracy doktorskiej metoda ta została wykorzystana do badania wpływu niedoboru trzech pierwiastków: magnezu, siarki oraz żelaza na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego dwóch odmian rzodkiewki (*Raphanus sativus* L.). Przeprowadzone doświadczenia oraz analiza i interpretacja otrzymanych danych pozwoliły na monitorowanie zaburzenia procesu fotosyntezy u badanych roślin pod wpływem niedoboru wyżej wymienionych składników mineralnych. Otrzymane wyniki umożliwiły wyłonienie grupy parametrów fluorescencji chlorofilu przy wykorzystaniu testu JIP, zmieniających się w charakterystyczny sposób pod wpływem wybranego niedoboru oraz poznanie mechanizmu działania danego stresora na funkcjonowanie fotoukładów II i I (PSII i PSI), uczestniczących w procesie przepływu elektronów w fazie fotosyntezy zależnej od promieniowania świetlnego (fotochemicznej). Ponadto, opracowano nowatorską metodę uprawy roślin rzodkiewki, optymalną do badań dotyczących odżywiania mineralnego roślin. Przedstawiona praca jest próbą wyjaśnienia wpływu niedoboru wybranych składników mineralnych na strukturę oraz funkcjonowanie PSII i PSI u roślin rzodkiewki. Uzyskane wyniki mogą posłużyć do poszerzania wiedzy nad produktywnością fotosyntetyczną roślin w warunkach niedoboru składników mineralnych oraz nad molekularnymi i biochemicznymi mechanizmami adaptacji aparatu fotosyntetycznego do tego typu stresów.

Treści prezentowane w rozdziale „Dyskusja” Autorka ukierunkowała na relacje pomiędzy uzyskanymi wynikami doświadczeń, a aktualnym stanem wiedzy dotyczącym badanych zagadnień. Szczegółowo zostały rozpatrzone także zagadnienia, które obecnie nie są jeszcze w pełni poznane i wyjaśnione, jak również do Autorka ustosunkowała się do rozwiązań alternatywnych i wymagających dalszych badań. Uzyskane przez Autorkę wyniki zostały podsumowane w postaci dobrze udokumentowanych wniosków. Przy sformułowaniu wniosków Autorka wykazała zarówno krytycyzm jak i należyłą ostrożność. Przypuszczam, że ze względu na wnioski aplikacyjne praca wzbudzi zainteresowanie praktyków i zasługuje na promocję tych wyników.

W załączonym spisie literatury Autorka cytuje 50 najważniejszych prace autorów polskich i zagranicznych. Są to głównie oryginalne, najnowsze publikacje oraz opracowania monograficzne.

Do manuskryptu rozprawy doktorskiej Autorka w formie aneksu dołączyła:

- 3 publikacje stanowiące rozprawę doktorską
- oświadczenie współautorów artykułów stanowiących rozprawę doktorską
- listę 13 artykułów opublikowanych w trakcie studiów doktoranckich ale nie wchodzących w skład rozprawy doktorskiej
- elektroniczna wersja rozprawy na płycie CD


Manuskrypt pracy doktorskiej pani mgr Izabeli Samborskiej-Skutnik został pod względem edytorskim poprawnie i starannie opracowany, a pod względem formalnym i merytorycznym spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Pewne potknięcia zaznaczyłem w tekście do późniejszego wykorzystania. Tak jak wcześniej wspomniałem, integralną częścią rozprawy są 3 prace oryginalne – 2 opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych i na pewno były recenzowane przez wysokiej klasy specjalistów oraz jedna złożona do druku w czasopiśmie *Photosynthetica*, będąca w recenzji.

W mojej ocenie przedstawiony do recenzji materiał pod względem formalnym i merytorycznym spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Rozprawa doktorska pani mgr Izabeli Samborska-Skutnik wnosi nowe elementy poznawcze i uytylitarne wzbogacające wiedzę w zakresie znaczenia i roli magnezu, siarki i żelaza w procesach fizjologicznych. Jest przykładem zamkniętego cyklu badawczego od koncepcji przez staranny dobór materiału roślinnego, właściwe metody oraz przedyskutowaniu wyników własnych i ich konfrontację z poglądami innych autorów.

Na podstawie załączonej do manuskryptu dokumentacji można stwierdzić, że znaczący dorobek ukazuje panią mgr Izabelę Samborską-Skutnik jako zdolnego i samodzielnego pracownika naukowego o skryzalizowanych zainteresowaniach. W Jej dotychczasowym dorobku znajdujemy oryginalne prace poznawcze, a dostępny warsztat badawczy pozwala na prowadzenie badań na poziomie nie odbiegającym od aktualnych standardów europejskich. Sprzyjającą okolicznością dla dalszej naukowej działalności naukowej są kontakty nawiązane z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami badawczymi, co pozwala na powiązanie tematyki badań własnych z aktualnymi trendami.

Podsumowując ocenę stwierdzam, że rozprawa doktorska pani mgr Izabeli Anny Samborskiej-Skutnik spełnia wymagania określone w ustawie z dnia 14 marca 2004 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr. 65 poz. 595) z późniejszymi zmianami i stawiam wniosek do Rady Wydziału o dopuszczenie Autorki do następnych etapów publicznej obrony.

Ze względu na duże zaangażowanie Autorki oraz nowatorstwo i znaczenie uzyskanych wyników dla nauki zwracam się z prośbą o wyróżnienie przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej pani mgr Izabeli Samborska-Skutnik.


(dr hab. Maciej T. Grzesiak)

Kraków, 6.03.2013