



UNIWERSYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU

Wydział Nauk Biologicznych
i Weterynaryjnych

Toruń, 2025.08.07

Prof. dr hab. Adriana Szmidt-Jaworska
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii
ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń
e-mail: asjawors@umk.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Marii Anny Stasińskiej-Jakubas
pt. „Egzogenna aktywacja szlaków biosyntezy metabolitów wtórnych oraz modulacja
procesów fizjologicznych u wybranych gatunków roślin leczniczych”**

wykonana pod promotorstwem Pani dr hab. Barbary Hawrylak-Nowak, prof. uczelni oraz prof. dr hab. Sławomira Dreslera, promotora pomocniczego, w Katedrze Botaniki i Fizjologii Roślin, Wydziału Biologii Środowiskowej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Wprowadzenie

Komórka, podobnie jak cały organizm wielokomórkowy, stanowi system charakteryzujący się określonym stopniem uporządkowania. Informacje napływające zarówno ze środowiska zewnętrznego, jak i wynikające z wewnętrznych procesów metabolicznych, prowadzą do zakłócenia stanu homeostazy w obrębie wybranych szlaków komórkowych. W odpowiedzi na te bodźce, dzięki obecności wyspecjalizowanych mechanizmów regulacyjnych, komórka jest w stanie je rozpoznać i uruchomić specyficzne odpowiedzi. Odpowiedzi, które są determinowane przez charakter otrzymanej informacji przejawiają się m.in. zmianami w profilu ekspresji genów, reorganizacją cytoszkieletu czy modulacją aktywności białek, prowadząc do powstania odpowiedniego efektu biologicznego. Ujmując to w dużym uproszczeniu: komórka odbiera sygnał, interpretuje go, a następnie uruchamia odpowiednie szlaki prowadzące do syntezy określonych związków. W rezultacie powstają zróżnicowane metabolity, zarówno pierwotne, niezbędne do utrzymania podstawowych funkcji życiowych, jak i wtórne, które pełnią istotne funkcje w mechanizmach obronnych, komunikacji między organizmami oraz adaptacji do zmiennych warunków środowiskowych. Z perspektywy człowieka stanowią niezwykle cenne związki biologicznie czynne, tzn. są źródłem wielu substancji leczniczych,



naturalnych barwników, aromatów, a także komponentów wykorzystywanych w kosmetyce, rolnictwie, przemyśle spożywczym i biotechnologii.

Od wielu lat prowadzone są intensywne badania nad optymalizacją systemów indukcji oraz identyfikacją szlaków transdukcji sygnału odpowiedzialnych za biosyntezę roślinnych metabolitów wtórnych, w celu zwiększenia ich produkcji *in vivo*. Szczególne zainteresowanie budzą związki wykazujące wielokierunkową aktywność biologiczną oraz posiadające istotne właściwości protekcyjne i prozdrowotne z punktu widzenia zastosowań terapeutycznych u człowieka.

Uzupełnienie stanu wiedzy w zakresie biosyntezy i regulacji produkcji metabolitów wtórnych stanowi nadrzędny cel dysertacji przedstawionej do oceny. Pani mgr inż. Maria Stasińska-Jakubas podjęła udany i merytorycznie uzasadniony wysiłek opracowania zrównoważonych metod stymulacji syntezy wybranych związków wtórnych o znaczeniu biologicznym. W kontekście rosnącego zainteresowania naturalnymi metabolitami pochodzenia roślinnego, a także ograniczonej liczby danych eksperymentalnych dostępnych w literaturze, podjęcie badań w tym obszarze należy uznać za w pełni zasadne i wysoce celowe.

Ocena formalna

Rozprawa doktorska mgr inż. Marii Stasińskiej-Jakubas stanowi spójny tematycznie cykl publikacji, na który składają się cztery oryginalne prace anglojęzyczne, opublikowane w specjalistycznych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Prace te zostały starannie omówione i osadzone w szerszym kontekście rozprawy. Jeden z artykułów, opublikowany w czasopiśmie *Molecules* (MDPI), ma charakter przeglądowy, natomiast trzy pozostałe to publikacje eksperymentalne, które ukazały się w czasopismach: *Industrial Crops and Products* (Elsevier), *Phytochemistry* (Elsevier) oraz *Molecules* (MDPI) (ostatni artykuł został opublikowany w trakcie oceny: *Molecules* 2025, 30(13), 2782). Łączny współczynnik wpływu (IF, zgodny z rokiem wydania) wynosi 17,9, a całkowita punktacja według kryteriów MNiSW to 580. Tak wysoki dorobek publikacyjny już na etapie doktoratu zasługuje na szczególne uznanie i stanowi dowód solidności merytorycznej, dużego zaangażowania oraz istotnego udziału doktorantki w powstaniu prac. Fakt, że doktorantka we wszystkich publikacjach występuje jako pierwsza autorka, mimo ich wieloautorskiego charakteru,



dodatkowo podnosi wartość rozprawy i stanowi świadectwo jej wysokiego poziomu samodzielności naukowej.

Przedstawiona do oceny rozprawa posiada klasyczną strukturę charakterystyczną dla prac doktorskich opartych na cyklu tematycznie powiązanych publikacji naukowych, uzupełnioną kilkunastostronicowym komentarzem autorskim, podzielonym na wyodrębnione części. Całość prezentuje wysoki poziom merytoryczny, jednak jak każda praca naukowa wymaga także uważnej analizy, która pozwoli wskazać zarówno jej mocne strony, jak i elementy wymagające dalszego dopracowania. W roli recenzentki pragnę zatem przedstawić zarówno pozytywne aspekty rozprawy, jak i konstruktywne uwagi dotyczące możliwych ulepszeń.

Na wstępie odniosę się do tytułu pracy. Choć nie jest on błędny, w mojej ocenie jego zakres jest zbyt ogólny. Stwarza wrażenie, że praca obejmuje analizę stymulacji wszystkich szlaków metabolitów wtórnych w kontekście pełnego spektrum procesów fizjologicznych, podczas gdy w rzeczywistości badania koncentrują się na trzech wybranych gatunkach roślin leczniczych, określonych związkach chemicznych oraz badaniu stresu oksydacyjnego i odpowiedzi antyoksydacyjnej jako mechanizmu towarzyszącego biosyntezie metabolitów wtórnych. Bardziej precyzyjne i adekwatne byłyby tytuły takie jak: „Wpływ wybranych chemicznych elicytorów na biosyntezę metabolitów wtórnych oraz wybrane parametry fizjologiczne trzech gatunków roślin leczniczych” lub „Zróżnicowany wpływ elicytorów chemicznych na biosyntezę metabolitów oraz procesy fizjologiczne u trzech gatunków roślin leczniczych”. Każda z powyższych propozycji lepiej odzwierciedla zakres i specyfikę prowadzonych badań, zarówno pod kątem materiału biologicznego, jak i zastosowanych metod oraz analizowanych efektów.

Po omówieniu tytułu pracy warto zwrócić uwagę na jej ogólną strukturę i kompozycję. Rozprawa rozpoczyna się streszczeniem w języku polskim oraz angielskim, po którym następuje rozbudowane wprowadzenie teoretyczne do analizowanego problemu. Autorka umiejscawia tematykę badawczą w kontekście współczesnych wyzwań zrównoważonego rolnictwa, fitochemii oraz biotechnologii roślin, akcentując rosnące znaczenie substancji bioaktywnych pochodzenia roślinnego dla przemysłu farmaceutycznego, kosmetycznego oraz spożywczego. Wskazuje jednocześnie na istotne ograniczenia związane z naturalnym pozyskiwaniem tych związków, takie jak niskie stężenia, zmienność warunków środowiskowych oraz ograniczona dostępność surowca, podkreślając potrzebę opracowania efektywnych strategii zwiększania ich



zawartości w roślinach w warunkach kontrolowanych. Szczególną uwagę poświęcono elicytacji, rozumianej jako indukcja odpowiedzi obronnej roślin wywołanej przez czynniki stresowe, która prowadzi do intensyfikacji biosyntezy licznych związków chemicznych. Autorka przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący molekularnych i fizjologicznych mechanizmów odpowiedzi roślin na elicytory, podkreślając kluczową rolę reaktywnych form tlenu (RFT) w inicjacji tzw. fali oksydacyjnej oraz w aktywacji szlaków sygnalizacyjnych i metabolicznych. Zwraca przy tym uwagę na wspólny charakter tych procesów jako podstawę komórkowej reakcji roślin na różnorodne czynniki stresowe, jak również na potencjalne zagrożenia związane z toksycznością elicytorów przy przekroczeniu ich optymalnych dawek.

W kolejnym podrozdziale Autorka dokonuje szczegółowej charakterystyki trzech chemicznie odmiennych elicytorów zastosowanych w niniejszym badaniu, tj. mleczanu chitozanu (polisacharydu o szerokim spektrum działania, w tym zdolności indukowania szlaków fenylopropanoidowych), kwasu salicylowego (fitohormonu pełniącego funkcję regulatora homeostazy redoks oraz odpowiedzi odpornościowej roślin), a także seleninu sodu (nieorganicznego związku wykazującego właściwości antyoksydacyjne i potencjał jako elicytor abiotyczny). W związku z przedstawioną częścią mam dwie kwestie do doprecyzowania:

1. Wspomina Pani, że reaktywnym formom tlenu (RFT) przypisuje się przede wszystkim rolę sygnałową, m.in. poprzez kontrolę ekspresji genów kodujących enzymy antyoksydacyjne oraz enzymy uczestniczące w szlakach biosyntezy metabolitów wtórnych. Czy mogłaby Pani krótko przybliżyć mechanizmy tej regulacji przez RFT?
2. W opisie selenu jako elicytora wskazuje Pani, że jego działanie ochronne opiera się głównie na zapobieganiu skutkom stresu oksydacyjnego dzięki aktywacji komórkowego systemu obrony antyoksydacyjnej, m.in. poprzez zwiększenie aktywności szeregu enzymów oraz modulację ekspresji genów zaangażowanych w odpowiedź roślin na stres. Czy znany jest Pani bardziej szczegółowy mechanizm tego działania na poziomie molekularnym?

Część teoretyczną zamyka przegląd informacji botanicznych i fitochemicznych dotyczących trzech gatunków roślin leczniczych wykorzystanych w badaniach eksperymentalnych doktorantki: *Melissa officinalis* (melisa lekarska), *Hypericum perforatum* (dziurawiec zwyczajny) oraz *Chelidonium majus* (glistnik jaskółcze ziele). Gatunki te znajdują



szerokie zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym oraz zielarskim, głównie ze względu na wysoką zawartość biologicznie aktywnych metabolitów wtórnych, takich jak flawonoidy, kwasy fenolowe, alkaloidy czy olejki eteryczne. Chociaż dobór roślin jest uzasadniony, chciałabym zapytać, jakie konkretne kryteria zdecydowały o wyborze właśnie tych gatunków?

Podsumowując, wstęp stanowi klarowne i merytorycznie poprawne wprowadzenie do podejmowanej problematyki. Treść została przedstawiona w sposób logicznie uporządkowany, z zachowaniem równowagi pomiędzy szczegółowością, a przystępnością przekazu. Autorka unika nadmiernego nagromadzenia informacji, koncentrując się na najistotniejszych aspektach zagadnienia. W związku z powyższym, nie zgłaszam uwag do tej części pracy.

Założenia i cel badań zostały przedstawione w kolejnym rozdziale rozprawy. Mając na uwadze, że elicytacja może prowadzić do selektywnego zwiększenia zawartości metabolitów wtórnych w roślinach, Doktorantka sformułowała dwuelementowy, nadrzędny cel pracy. Zakłada on: (1) ocenę wpływu egzogennej aplikacji różnych typów elicytorów chemicznych na akumulację wybranych metabolitów wtórnych o potwierdzonym potencjale terapeutycznym w trzech gatunkach roślin leczniczych, oraz (2) analizę potencjalnego wpływu tych elicytorów na poziom stresu oksydacyjnego i odpowiedź antyoksydacyjną roślin, czyli zjawisk mogących stanowić sygnał inicjujący aktywację szlaków biosyntezy metabolitów wtórnych. Jednym z istotniejszych i zarazem interesujących zagadnień poruszonych w pracy jest dobór optymalnych stężeń substancji stosowanych w celu indukcji metabolizmu wtórnego roślin, w zależności od rodzaju zastosowanego elicytora chemicznego. W związku z tym chciałabym zapytać, jakie kryteria przesądziły o uznaniu wybranych stężeń za optymalne? Pytanie to wydaje się zasadne, ponieważ, jak wynika zarówno z treści rozprawy, jak i z załączonych publikacji, decyzja ta została oparta na danych literaturowych oraz wynikach badań wstępnych.

Kolejna część rozprawy poświęcona jest szczegółowemu opisowi zastosowanych materiałów i metod badawczych. Rozdział ten został logicznie podzielony na podrozdziały odpowiadające strukturze rozdziału dotyczącego wyników, co znacząco podnosi przejrzystość prezentacji treści i ułatwia późniejszą analizę danych eksperymentalnych.

Autorka zastosowała szeroki wachlarz nowoczesnych technik, obejmujących zarówno metody biochemiczne (chromatografia cieczerw, spektrofotometria, metody histochemiczne



oraz barwienia tkanek), jak i fizjologiczne (pomiar intensywności fotosyntezy, zawartości barwników fotosyntetycznych), a także analizy parametrów stresu oksydacyjnego (oznaczanie zawartości H_2O_2 , rodników ponadtlenkowych O_2^- , malonodialdehydu - MDA) oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPx). Zarówno różnorodność zastosowanych technik, jak i ich prawidłowa interpretacja zasługują na szczególne uznanie. Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością metod instrumentalnych oraz procedur oznaczeń biochemicznych. Na tym etapie chciałabym jednak poprosić Doktorantkę o doprecyzowanie kwestii budzących wątpliwości natury metodologicznej:

1. Jakimi kryteriami kierowała się Pani, wyznaczając terminy zbiorów dla poszczególnych gatunków roślin?
2. Dlaczego w przypadku glistnika jaskółcze ziele do analiz wykorzystano całe ziele, podczas gdy w odniesieniu do dwóch pozostałych gatunków analizowano wyłącznie liście?

Najobszerniejszą część rozprawy stanowi rozdział poświęcony prezentacji wyników oraz ich omówieniu. Autorka w sposób klarowny i spójny zintegrowała treści zawarte w opublikowanych artykułach naukowych, które stanowią podstawę dysertacji. Zważywszy, że wyniki te zostały wcześniej opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych, nie widzę potrzeby szczegółowego odnoszenia się do ich zawartości. Z pełnym przekonaniem mogę natomiast stwierdzić, że mgr inż. Maria Stasińska-Jakubas przeprowadziła rzetelnie zaplanowane i konsekwentnie zrealizowane eksperymenty, które zaowocowały interesującymi i dobrze udokumentowanymi wynikami. Przedstawione dane stanowią przykład obiektywnego, metodologicznie poprawnego oraz naukowo uzasadnionego podejścia badawczego w omawianym zakresie. Warto jednak zaznaczyć, że rozprawa doktorska, oprócz samej prezentacji wyników, powinna również zawierać autorski komentarz badaczki. W tym kontekście w omawianym rozdziale dostrzegam pewien niedosyt: brakuje krótkiej refleksji na temat perspektyw dalszych badań, możliwych kierunków rozwoju tej tematyki, potencjalnych zastosowań praktycznych uzyskanych wyników, czy też własnych przemyśleń Autorki w kontekście prowadzonych prac. Choć taki element nie jest formalnym wymogiem, mógłby stanowić wartościowe uzupełnienie dyskusji oraz interesujące zwieńczenie rozdziału dla czytelnika. W związku z powyższym pozwolę sobie skierować do Doktorantki dwa pytania:



1. Jak, według Pani, mogłyby wyglądać dalsze kierunki rozwoju omawianej tematyki badawczej?
2. Czy, w Pani ocenie, metody elicytacji wykazują realny potencjał do wdrożeń komercyjnych?

Całość rozprawy zamyka wykaz literatury przedmiotu, kopie publikacji stanowiących integralną część dysertacji, oświadczenia współautorów, a także interesujący pod względem naukowym i organizacyjnym życiorys Doktorantki.

Nie zgłaszam istotnych zastrzeżeń do przedłożonej rozprawy. Autorka w sposób spójny, logiczny i przejrzysty, zarówno pod względem merytorycznym, jak i chronologicznym, przedstawiła aktualny stan wiedzy oraz własne osiągnięcia badawcze.

Pomimo wysokiego poziomu pracy, w jej treści można zauważyć kilka niefortunnie dobranych sformułowań oraz zwrotów o charakterze nieprecyzyjnym lub nieformalnym, na które, jako recenzentka, czuję się zobowiązana zwrócić uwagę. Dla przykładu, na stronie 31 Autorka stwierdza, że „ChL i SA na ogół charakteryzowały się większą efektywnością”. Zastosowanie wyrażenia „na ogół” może sugerować, że w niektórych przypadkach było inaczej, co wymagałoby krótkiego komentarza lub interpretacji. Podobna uwaga dotyczy zdania z tej samej strony: „mieszanina ChL+Se+SA z reguły nie powodowała”. Warto w tym przypadku doprecyzować, co działo się w sytuacjach odbiegających od „reguły”, aby uniknąć niedopowiedzeń. Z kolei na stronie 42 pojawia się sformułowanie „wzdłuż unerwienia blaszki liściowej”, które budzi pewne zastrzeżenia terminologiczne. W mojej opinii bardziej adekwatne byłoby użycie określenia „wzdłuż wiązek przewodzących”. Te drobne nieścisłości w żaden sposób nie wpływają na wartość naukową ani wiarygodność prowadzonych badań. Niemniej jednak, warto mieć na uwadze, że w pracach eksperymentalnych precyzja językowa i dbałość o szczegóły terminologiczne są szczególnie istotne.

Na zakończenie chciałabym podkreślić, że większość zgłoszonych przeze mnie uwag należy traktować jako konstruktywną krytykę, mającą na celu wspieranie dalszego rozwoju naukowego Autorki. Nie podważają one w żadnym stopniu wartości merytorycznej pracy ani osiągnięć Doktorantki, a ich sformułowanie wynika z roli recenzenta.



Podsumowanie

W dysertacji doktorskiej Doktorantka przedstawiła oryginalne, interesujące oraz wartościowe dane, które wnoszą istotny wkład w obszar zrównoważonego rolnictwa oraz fitomedycyny. Poszukiwanie naturalnych metod zwiększania zawartości cennych metabolitów w surowcach roślinnych, przy jednoczesnym zachowaniu ochrony środowiska, stanowi jedno z istotnych i aktualnych wyzwań badawczych o wysokim potencjale wdrożeniowym. Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że mgr inż. Maria Stasińska-Jakubas jest dobrze przygotowanym badaczem, zdolnym do samodzielnego planowania i prowadzenia eksperymentów, rzetelnej oceny uzyskanych wyników oraz ich prezentacji w kontekście aktualnego stanu wiedzy.

Wniosek końcowy

Potwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia wszystkie ustawowe wymagania stawiane tego typu pracom, zgodnie z przepisami artykułu 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 1571).

Praca ta istotnie wzbogaciła wiedzę w analizowanym zakresie tematycznym, potwierdzając jednocześnie szeroką znajomość zagadnień przez doktorantkę oraz jej umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych i rzetelnej interpretacji uzyskanych wyników.

W związku z powyższym zwracam się do Rady Dyscypliny Biologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z rekomendacją dopuszczenia Pani mgr inż. Marii Stasińskiej-Jakubas do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, jeżeli w ramach przewodu doktorskiego istnieje możliwość przyznania nagród lub wyróżnień za prace o szczególnych walorach naukowych, uprzejmie rekomenduję rozważenie uhonorowania Pani mgr inż. Marii Stasińskiej-Jakubas stosownym wyróżnieniem.

Prof. dr hab. Adriana Szmidt-Jaworska



Elektronicznie podpisany przez:

ADRIANA KATARZYNA SZMIDT-JAWORSKA

Data:
2025-07-11 15:25