

Prof. dr hab. Beata Gabryś
Instytut Nauk Biologicznych
Ul. Prof. Z. Szafrana 1
65-516 Zielona Góra

Zielona Góra, 16 grudnia 2021

Recenzja

**rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Sabiny Łukaszewicz
pt.**

**„Udział selenu w reagowaniu grochu siewnego (*Pisum sativum* L.) na żerowanie mszycy
grochowej (*Acyrtosiphon pisum* Harris)”**

Maszynopis przedłożonej do recenzji rozprawy pt. „Udział selenu w reagowaniu grochu siewnego (*Pisum sativum* L.) na żerowanie mszycy grochowej (*Acyrtosiphon pisum* Harris)” zawiera 76 stron tekstu. Dysertacja składa się z części opisowej, liczącej 11 stron, która jest określona jako ‘Streszczenie rozprawy doktorskiej’ oraz pięciu opublikowanych już artykułów naukowych będących podstawą rozprawy. Część opisowa została podzielona na sześć rozdziałów stanowiących omówienie badań: Spis artykułów stanowiących rozprawę doktorską, Wprowadzenie, Cel pracy i hipoteza badawcza, Badania, Wyniki i ich omówienie, Wnioski i Podsumowanie. Po części opisowej, zamieszczono artykuły naukowe. Na końcu maszynopisu zamieszczone są również oświadczenia Autorki dysertacji oraz współautorów artykułów stanowiących jej zasadniczą treść, dotyczące stopnia zaangażowania w badania i powstanie publikacji.

Pierwszy rozdział części opisowej zawiera wykaz publikacji zamieszczonych w rozprawie oraz ich pełne dane bibliograficzne, włącznie z punktacją określoną przez MNiSW oraz IF. Wszystkie artykuły, w tym jeden artykuł przeglądowy i cztery oryginalne prace twórcze, zostały opublikowane w latach 2018-2021. Kolejny rozdział stanowi krótkie, liczące dwie strony, ‘Wprowadzenie’ w zagadnienia będące przedmiotem zainteresowań naukowych Autorki, czyli głównie w problematykę reakcji roślin na czynniki stresowe na poziomie molekularnym. Szczególną uwagę poświęca Autorka roli pierwiastków śladowych, zwłaszcza selenu, w kształtowaniu się odpowiedzi roślin na czynniki stresowe, przedstawiając jednocześnie tzw. Elemental Defense Hypothesis. Autorka omawia wielostronne oddziaływanie selenu na rośliny w zależności od zawartości tego pierwiastka w glebie, jak też formy jego występowania. Czytelnik uzyskuje informację, że niektóre rośliny wybiórczo pobierają selen z podłoża i akumulują go w swoim organizmie, co przyczynia się z jednej strony do wzmocnienia aktywności systemów reakcji roślin na różne rodzaje stresu,

a z drugiej – nabywania cech toksycznych dla potencjalnych fitofagów i patogenów. Autorka wskazuje też na delikatny balans pozytywnych i negatywnych oddziaływań selenu na roślinę, uzależniony od zawartości tego pierwiastka w podłożu. Ponadto, Autorka wskazuje na luki w wiedzy w zakresie funkcji selenu w reakcjach roślin na stres biotyczny. Te luki właśnie starała się zapełnić Autorka rozprawy podejmując badania nad udziałem selenu w interakcjach roślin i mszyc na przykładzie modelu: roślina bobowata – mszyca grochowa. W końcowej części ‘Wprowadzenia’, Autorka przedstawia krótko charakter stresu biotycznego wywoływanego przez aktywności żywieniowe mszyc na roślinach. Rozdział ‘Cel pracy i hipoteza robocza’ to bardzo zwięzłe przedstawienie problemu, który Autorka zamierzała rozwiązać podejmując badania. Aby zrealizować cel, sformułowała jedną ogólną hipotezę roboczą. Następny rozdział nosi tytuł ‘Badania’ i zawiera opis eksperymentów prowadzonych w celu weryfikacji postawionej wcześniej hipotezy. Badania prowadzone były w trzech etapach. W pierwszym etapie badań Autorka opisała reakcję roślin grochu siewnego na zróżnicowany poziom zawartości selenu w podłożu oraz jego formę chemiczną. W efekcie opisanych eksperymentów Autorka ustaliła, między innymi, optymalny zakres stężeń i form selenu przydatne dla kolejnych etapów badań. W drugim etapie, Autorka badała wpływ żerowania mszyc i selenu na parametry biochemiczne opisujące reakcje roślin na stres. Trzeci etap badań koncentrował się na reakcji fitofagów – mszyc – na zmiany zachodzące w roślinie pod wpływem pobranego z podłoża selenu. Autorka badała dwa aspekty reakcji mszyc: zachowanie podczas penetracji roślin oraz parametry demograficzne. Opis prowadzonych badań uzupełniają diagramy ilustrujące schemat eksperymentów oraz tabela zawierająca zestawienie wykonanych analiz biochemicznych. Rozdział ‘Wyniki i ich omówienie’ zawiera krótkie (2,5 strony) podsumowanie najważniejszych wyników uzyskanych w efekcie realizacji poszczególnych etapów badań, w odniesieniu do publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Szósty rozdział ‘Wnioski i podsumowanie’ zawiera konkluzje wynikające z analizy uzyskanych wyników, sformułowane w postaci siedmiu punktów, oraz ich omówienie.

Pierwszy artykuł wchodzący w cykl prac stanowiących zasadniczą część dysertacji Pani mgr inż. Sabiny Łukaszewicz to praca przeglądowa, która jest podsumowaniem aktualnej wiedzy na temat, jak określono w tytule, ‘Selenu w roślinach i jego wpływu na żerowanie fitofagów’ (Łukaszewicz, S., Politycka, B. 2020. *Progress in Plant Protection*, 60(2):119-127). Artykuł powstał w oparciu o 77 prac naukowych opublikowanych głównie w ostatnim dwudziestolecu. Omawiane informacje zostały usystematyzowane w postaci rozdziałów traktujących kolejno o ekologicznych i metabolicznych zależnościach selen-rośliny oraz znaczeniu selenu w interakcjach ze środowiskiem abiotycznym i biotycznym. Szczegółowo omawiany jest problem udziału selenu w reakcjach odpornościowych roślin na poziomie molekularnym w odpowiedzi na żerowanie fitofagów, w tym mszyc. Końcowy fragment omawianej publikacji podkreśla znaczenie prac badawczych nad wpływem selenu na parametry życiowe i żerowanie fitofagów w kontekście powiązań troficznych organizmów, szczególnie w obrębie agroekosystemów. Pani mgr inż. Sabina Łukaszewicz określiła swój

udział w powstaniu artykułu jako 90 %, a Jej działania obejmowały dobór piśmiennictwa oraz współpracę w zakresie opracowania układu treści i pisanie manuskryptu.

Drugi w kolejności artykuł, 'Effects of selenium on the content of essential micronutrients and their translocation in garden pea' (Łukaszewicz, S., Politycka, B., Smoleń, S. 2018. *Journal of Elementology*, 23(4):1307-1317), porusza tematykę wpływu formy chemicznej i stężenia selenu dostępnego w podłożu na wzrost i rozwój roślin oraz pobieranie, transport i akumulację mikroelementów. W badaniach stwierdzono, że selen jest kumulowany głównie w korzeniach roślin i lepiej przyswajalną jego formą jest selenian. Selenian jest też formą mniej toksyczną dla roślin niż selenin. Ponadto, wykazano, że selen dostępny w stężeniu $20 \mu\text{M}/\text{dcm}^3$ ma działanie toksyczne – ogranicza masę i zawartość wody w korzeniach oraz ogranicza przyswajanie mikroelementów (żelaza, cynku, manganu i boru). Pani mgr inż. Sabina Łukaszewicz określiła swój udział w powstaniu artykułu na 50 %, który obejmował działania na każdym etapie prowadzenia badań, analizy wyników i przygotowania pracy do druku.

Trzecia publikacja ujęta w dysertacji, to 'Accumulation of selected macronutrients and tolerance towards selenium of garden pea treated with selenite and selenate' (Łukaszewicz, S., Politycka, B., Smoleń, S. 2019. *Journal of Elementology*, 24(1):245-256). Artykuł w prawdzie ukazał się rok później, niż poprzednio omawiana publikacja, ale został oddany do druku wcześniej i zawiera wyniki niezbędnych badań wstępnych wykorzystane w późniejszych etapach realizacji pracy doktorskiej. Dotyczy bowiem eksperymentów wyznaczających stężenie selenu w pożywkach w celu doboru takich stężeń, które wywołają u roślin stres abiotyczny o umiarkowanym nasileniu, a jednocześnie akumulacja tego pierwiastka i jego wpływ na metabolizm rośliny będą zauważalne. Zastosowano cztery stężenia selenu (10, 20, 50 i $100 \mu\text{M}/\text{dcm}^3$) i podano go w dwóch formach – selenianu i selenitu. Istotnym odkryciem tego etapu badań było wyznaczenie indeksu tolerancji grochu na stężenie selenu w oparciu o wartość przyrostu długości korzenia, w którym to selen jest akumulowany. Stwierdzono również, podobnie jak w omawianych wcześniej badaniach, że groch lepiej toleruje selen w formie selenianu oraz, że tolerancja rośliny względem selenu jest dodatnio skorelowana z zawartością makroelementów – potasu i wapnia – w korzeniach i pędach grochu. Pani mgr inż. Sabina Łukaszewicz określiła swój udział w powstaniu artykułu na 50 %, który obejmował działania na każdym etapie prowadzenia badań, analizy wyników i przygotowania pracy do druku.

Czwarty artykuł, 'Effect of selenium on alleviating oxidative stress in pea leaves caused by pea aphid feeding' (Łukaszewicz, S., Politycka, B., Borowiak-Sobkowiak, B. 2021. *Journal of Plant Protection Research*, 61(1):83-94) dotyczy udziału selenu w interakcji roślina-fitofag, a dokładniej – reakcji roślin na stres wywołany żerowaniem mszyc i wpływu selenu na poziom tego stresu w układzie eksperymentalnym *Pisum sativum* – *Acyrtosiphon pisum*. Reakcję roślin na żerowanie mszyc badano oceniając wartości wskaźników molekularnych stresu oksydacyjnego takich, jak poziom generowania reaktywnych form tlenu, czy aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Badania wykazały, że zarówno stosowane dawki selenu, jak i żerowanie mszyc stanowiły stres dla roślin, co objawiało się zwiększonym

poziomem anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru oraz, w konsekwencji, podwyższoną aktywnością enzymów antyoksydacyjnych. Analizując interakcję czynników stresowych i odpowiedzi rośliny stwierdzono, że całkowita zdolność antyoksydacyjna roślin wzrastała pod wpływem selenu. Największą siłę oddziaływania miał selen w postaci selenianu o stężeniu $10 \mu\text{M}/\text{dcm}^3$. Pani mgr inż. Sabina Łukaszewicz określiła swój udział w powstaniu artykułu na 50 %, który obejmował działania na każdym etapie prowadzenia badań, analizy wyników i przygotowania pracy do druku.

Praca 'Interaction between *Acyrtosiphon pisum* and selenium-treated *Pisum sativum*' (Łukaszewicz, S., Borowiak-Sobkowiak, B., Durak, R., Dancewicz, K., Politycka, B. 2021. The European Zoological Journal, 88(1):58-76) zamyka cykl artykułów ujętych w dysertacji. Celem tej pracy było zbadanie zachowania *A. pisum* podczas penetracji roślin oraz – w dłuższej perspektywie – rozwoju i innych aspektów demografii mszycy grochowej na roślinach pobierających selen z podłoża. Ponadto, zbadano też aktywność enzymów antyoksydacyjnych, detoksykacyjnych i oksydoredukcyjnych w tkankach mszyc żerujących na roślinach traktowanych związkami selenu. Podobnie, jak w poprzednio opisaney publikacji, stosowano dwa stężenia selenu (10 i $20 \mu\text{M}/\text{dcm}^3$) w dwóch formach – seleninu i selenianu. Równolegle, monitorowano skutki działania stresu wywołanego podaniem selenu i żerowaniem mszyc poprzez zbadanie poziomu flawonoli i karotenoidów w liściach grochu. Wykazano, że obydwie zastosowane czynniki stresowe spowodowały zwiększenie syntezy tych allelozwiązków przez rośliny grochu. Okazało się również, że na roślinach wzbogaconych selenem mszyce pobierały mniej pokarmu, poświęcając relatywnie więcej czasu na penetrację tkanek pozafloemowych niż rurek sitowych, co zapewne przełożyło się na obniżenie żywotności, płodności i przeżywalności na tych roślinach. W tkankach mszyc żerujących na roślinach wzbogaconych selenem zaobserwowano również zwiększenie aktywności badanych grup enzymów biorących udział w detoksykacji allelozwiązków roślinnych. Pani mgr inż. Sabina Łukaszewicz określiła swój udział w powstaniu artykułu na 50 %, który obejmował działania na każdym etapie prowadzenia badań, analizy wyników i przygotowania pracy do druku.

Podsumowanie

Wysoko oceniam wybór tematu rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Sabiny Łukaszewicz. Podjęte badania stanowią doskonały przykład próby opisaney zależności na pograniczu środowiska abiotycznego i biotycznego. Należy stwierdzić, że Doktorantka wywiązała się z postawionego sobie zadania bardzo dobrze. Podjęte badania miały charakter systemowy, a publikacje będące ich wynikiem są spójne i stanowią uzupełniającą się całość. Uprawniają tym samym do syntetycznego wnioskowania. Autorka bazując na uzyskanych wynikach potwierdziła postawioną przez siebie hipotezę badawczą.

Wyniki badań oraz płynące z nich wnioski przedstawione w pięciu zamieszczonych opracowaniach były już przedmiotem recenzji zespołów dopuszczających wymienione prace do druku, w związku z czym nie mam do nich merytorycznych i technicznych uwag. Mam jednak pewien niedosyt, jeśli chodzi o część opisową przedstawioney dysertacji. Uważam, że

zbyt lakonicznie potraktowano uzasadnienie wyboru modelu badawczego (mszyca grochowa – groch), jak też zbyt ogólnie sformułowano hipotezę roboczą. Ponadto, oczekiwałabym również bardziej szczegółowego sformułowania wniosków, poprzez poparcie ogólnych stwierdzeń konkretnymi danymi wynikającymi z opublikowanych badań. Część tego typu informacji zawarta jest w części 'Wyniki i ich omówienie'. Jednakże, warto byłoby nieco rozwinąć wnioski w celu lepszego uporządkowania informacji tym bardziej, że w dysertacji nie zamieszczono typowego skróconego streszczenia.

Wniosek końcowy

Przedstawione w recenzji uwagi mają charakter porządkujący i nie podważają wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Sabiny Łukaszewicz. Główną zasługą Doktorantki jest kompleksowe zbadanie oddziaływań podłoże – roślina – fitofag z bezpośrednim (wpływ na roślinę) i pośrednim (wpływ na fitofaga) udziałem selenu. Wyniki badań mają duże znaczenie poznawcze oraz mogą znaleźć zastosowanie w praktyce.

Podsumowując stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim wymienione w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz.U. z 2017 r. poz. 1789 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r., w przepisach wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669) a także zawartych w rozporządzeniu MNiSW z dnia 26 września 2016r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora i wnioskuję o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

