



Gliwice, 16.05.2019

## Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Pauliny Kseni Stolarek

pt.: *Rola wybranych antyoksydantów w biodegradacji butylowych związków cyny przez mikroskopowy grzyb strzępkowy Metarhizium robertsii*

Przedstawiona do recenzji praca została wykonana pod kierunkiem promotora dr hab. Przemysława Bernata profesora nadzw. Uniwersytetu Łódzkiego.

### I. Charakterystyka rozprawy

Rozprawę doktorską mgr P. Stolarek otwiera wykaz artykułów przedstawionych do oceny wraz ze spisem źródeł finansowania zrealizowanych prac. Dalej zamieszczone zostało krótkie wprowadzenie, w którym Doktorantka charakteryzuje butylowe związki cyny, podaje ich zastosowanie w przemyśle i przedstawia skutki wprowadzania tych związków do środowiska oraz powody uznania butylowych związków cyny za zanieczyszczenia długoterminowe. W tej części pracy wyjaśniony został też mechanizm toksyczności i bioakumulacji omawianych związków oraz przesłanki do podjęcia badań własnych poświęconych biodegradacji butylowych związków cyny przez grzyby strzępkowe.

Kolejny rozdział rozprawy to cele pracy, które zostały podane w punktach. Doktorantka w swoich badaniach postawiła przed sobą cele:

- optymalizację biodegradacji dibutylocyny przez grzyb *Metarhizium robertsii* IM 6519,
- analizę wpływu wybranych substancji o właściwościach antyoksydacyjnych na rozkład butylowych związków cyny przez szczep IM 6519,
- ocenę toksycznego oddziaływania di- i tributyllocyny na wybrane składniki lipidomu szczepu IM 6519 w/bez obecności witaminy C.

W następnym rozdziale Doktorantka przedstawiła w jaki sposób przeprowadziła badania prowadzące do realizacji poszczególnych celów wymienionych w poprzednim rozdziale i jakie uzyskała rezultaty oraz jakie wyciągnęła wnioski. Dla każdego celu badawczego oprócz opisu badań i uzyskanych wyników dołączone zostały właściwe artykuły powstałe w oparciu o uzyskane wyniki badań.

Podsumowanie rozprawy doktorskiej stanowi rozdział zawierający wnioski, a także opinię Doktorantki na temat wpływu uzyskanych wyników na rozwój dyscypliny oraz możliwości zastosowania w praktyce.

Zakończenie rozprawy stanowią natomiast streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz literatury i całkowity dorobek Doktorantki.

## II. Zasadność podjętej tematyki

Doktorantka w swoich badaniach skupiła się na biodegradacji butylowych związków cyny przez mikroskopowy grzyb strzępkowy *Metarhizium robertsii*. Powody wyboru zarówno organicznych związków cyny jak i mikroorganizmu zdolnego do rozkładu omawianych związków Doktorantka omówiła w pierwszym rozdziale rozprawy zawierającym wprowadzenie do tematyki badań.

Do uzasadnienia podanego przez Doktorantkę warto dodać, że butylowe związki cyny mogą być z powodzeniem usuwane ze ścieków, wód i osadów ściekowych przy zastosowaniu ozonowania lub metod zaawansowanego chemicznego utleniania, np. fotokatalizy, procesu foto-Fentona, ozonowania wspomaganego promieniowaniem UV lub nadtlenkiem wodoru. Należy pamiętać jednak, że metody te choć bardzo skuteczne i szybkie, są znacznie droższe od metod biologicznych. Aktualnie poszukuje się nowych metod pozwalających z jednej strony na skuteczne eliminowanie ze środowiska mikrozanieczyszczeń o potencjale toksycznym, a z drugiej ograniczających do niezbędnego minimum stosowanie reagentów chemicznych. Dlatego podjęte przez Doktorantkę badania nad wykorzystaniem grzybów strzępkowych do biodegradacji butylowych związków cyny uważam za uzasadnione i istotne nie tylko z punktu widzenia poznawczego, ale również z powodu możliwości aplikacyjnych.





### III. Walory pracy

Rozprawa doktorska mgr Pauliny Kseni Stołarek to cykl jednotematycznych artykułów wieloautorskich opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym o IF powyżej 2. Łączny IF artykułów składających się na oceniany cykl to 13,094, a sumaryczna liczba punktów MNiSzW wynosi 130. Wynik ten uważam za bardzo dobry. Dodatkowo należy zwrócić uwagę, że Doktorantka uzyskała finansowanie na prowadzone przez siebie badania w postaci projektu finansowanego przez NCN oraz dwóch projektów finansowanych ze środków własnych Uczelni. Świadczy to o znacznej samodzielności Doktorantki w organizacji i prowadzeniu badań naukowych.

Analizując cele przyjęte w rozprawie doktorskiej, przeprowadzone badania i uzyskane wyniki za najistotniejsze osiągnięcia pracy uważam:

- wykazanie kometabolicznego rozkładu dibutylocyny, wykrycie hydroksylowanej monobutylocyny jako metabolitu pośredniego, wskazującego na udział monoooksygenaz cytochromu P450 w biodegradacji DBT. Wyniki prowadzące do powyższych wniosków opisane zostały w publikacji: Siewiera P., Różalska S., Bernat P.: Efficient dibutyltin (DBT) elimination by the microscopic fungus *Metarhizium robertsii* under conditions of intensive aeration and ascorbic acid supplementation. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24, 12118-12127;
- wykazanie przydatności witaminy C jako związku ograniczającego stres oksydacyjny i przez to przyspieszającego biodegradację MBT, odpowiedzialnej za powstawanie reaktywnych form tlenu i azotu; opisanie roli estronu i 17 $\beta$ -estradiolu w usuwaniu reaktywnych form tlenu i braku ich pozytywnego wpływu na degradację DBT ze względu na inhibicję kompetycyjną monoooksygenaz cytochromu P450. Wyniki prowadzące do powyższych wniosków opisane zostały w publikacjach: Siewiera P., Różalska S., Bernat P.: Efficient dibutyltin (DBT) elimination by the microscopic fungus *Metarhizium robertsii* under conditions of intensive aeration and ascorbic acid supplementation. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24, 12118-12127; Siewiera P., Różalska S., Bernat P.: Estrogen-mediated protection of the organotin-degrading strain *Metarhizium robertsii* against oxidative stress promoted by monobutyltin. *Chemosphere*, 2017, 185, 96-104; Siewiera P., Bernat P., Różalska S., Długoński J.: Estradiol improves tributyltin degradation by the filamentous fungus *Metarhizium robertsii*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, 104, 258-263;

- opisanie wpływu butylowych związków cyny na lipidom szczepu *Metarhizium robertsii* IM 6519 skutkującego zmniejszeniem płynności i przepuszczalności błon komórkowych, a także wykazanie pozytywnego wpływu witaminy C obecnej w podłożu hodowlanym na stan błon komórkowych grzyba *Metarhizium robertsii* poddanego działaniu butylowych związków cyny. Wyniki prowadzące do powyższych wniosków opisane zostały w publikacji: Siewiera P., Różalska S., Bernat P.: Lipidomic adaptations of the *Metarhizium robertsii* strain in response to the presence of butyltin compounds. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 2019, 1861, 316-326.

#### IV. Uwagi

Praca została napisana poprawnym językiem z minimalną liczbą błędów. Kompozycja rozprawy, sposób przedstawienia omawianych zagadnień jest jasny i precyzyjny, nie nastęrcza problemów w śledzeniu myśli Autorki. Na podkreślenie zasługuje też szeroki wachlarz analiz i technik pomiarowych wykorzystanych w pracy. Przy generalnie bardzo pozytywnej ocenie przeprowadzonych badań i sposobu ich prezentacji, przedstawiona do oceny rozprawa nasuwa wymienione poniżej uwagi i komentarze.

Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z dnia 27 września 2017 r., Poz. 1789) w artykule 13. pkt. 2. mówi „Rozprawa doktorska może mieć formę ... spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych, ...”, a w punkcie 4 „Rozprawę doktorską może także stanowić samodzielna i wyodrębniona część pracy zbiorowej, jeżeli wykazuje ona indywidualny wkład kandydata przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, odpowiadający warunkom określonym w ust. 1.”. Ponieważ do ocenianej rozprawy doktorskiej nie zostały dołączone oświadczenia o wkładzie autorów publikacji w ich opracowanie, a w żadnej z publikacji Doktorantka nie jest autorką korespondencyjną, prosiłabym o szczegółowe wyjaśnienie podczas publicznej obrony, jaka była rola poszczególnych autorów w uzyskaniu wyników i przygotowaniu publikacji. Ponieważ aż trzy artykuły spośród czterech włączonych w cykl odwołują się w informacjach o finansowaniu do projektu, którego kierownikiem była Doktorantka, to zakładam, że jej rola w uzyskaniu wyników i przygotowaniu publikacji była wiodąca.

W pierwszym artykule, opublikowanym w *Environmental Science and Pollution Research* Doktorantka przedstawia optymalne warunki hodowli grzyba *Metarhizium robertsii* wskazując między innymi na rolę intensywnego napowietrzania w formowaniu grzybni rozproszonej o długich



strzępkach sprzyjającej lepszej wymianie masy w trakcie hodowli i podając jako optymalną wartość poziomu natlenienia minimum 20%. Ponieważ z zamieszczonej w artykule metodyki badań trudno jest wywnioskować dlaczego akurat taka wartość dla rozpuszczonego tlenu została przyjęta, to nasuwa się pytanie, czy optymalne stężenie tlenu rozpuszczonego zostało wyznaczone w osobnym doświadczeniu i czy stosowano różne intensywności napowietrzania w trakcie prowadzenia hodowli w bioreaktorze.

Komentarza wymaga pierwsze zdanie z rozdziału 3.5 *CAT and SOD activities* artykułu opublikowanego w *Chemosphere* (str.101). Wynika z niego, że z jednej strony tlen jest toksyczny dla organizmów tlenowych, a z drugiej strony wymagają one dostarczenia tlenu w dużej ilości do eliminowania butylowych związków cyny. Bez rozwinięcia tego stwierdzenia pozostaje ono sprzeczne wewnętrznie.

Otwarta w rozprawie pozostaje też kwestia jakie substancje pozostają po biodegradacji butylowych związków cyny przez grzyb *Metarhizium robertsii*, czy jest on zdolny do pełnej mineralizacji degradowanych związków i czy odpływ poreakcyjny jest bezpieczny ekotoksykologicznie.

#### V. Konkluzja końcowa

Swoją rozprawą doktorską Pani mgr Paulina Ksenia Stolarek udowodniła samodzielność w prowadzeniu badań naukowych. Zrealizowała dobrze zaplanowane badania nad biodegradacją butylowych związków cyny przez mikroskopowy grzyb strzępkowy *Metarhizium robertsii* oraz nad możliwością stosowania związków ograniczających stres oksydacyjny wywołany butylowymi związkami cyny. Przeprowadziła poprawną analizę uzyskanych wyników i właściwie sformułowała wnioski. Wykazała się także umiejętnością organizowania prac badawczych pozyskując środki na ich finansowanie oraz publikowania wyników w renomowanych czasopismach naukowych.

Dlatego uważam, że oceniana praca pt.: *Rola wybranych antyoksydantów w biodegradacji butylowych związków cyny przez mikroskopowy grzyb strzępkowy Metarhizium robertsii* spełnia wymagania Ustawy o stopniach i tytule naukowym i w związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie jej do publicznej obrony.

