

Warszawa, 25.08. 2021 r.

prof. dr hab. Agnieszka Gniazdowska-Piekarska  
Katedra Fizjologii Roślin  
Instytut Biologii  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

### Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Kołodziejczyk  
pt. „Egzogenna melatonina jako czynnik modyfikujący metabolizm kiełkujących nasion  
kukurydzy (*Zea mays* L.)”

wykonanej w Katedrze Ekofizjologii Roślin Instytutu Biologii Eksperymentalnej  
Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem prof. dr hab. Małgorzaty M. Posmyk.

### Uwagi formalne

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską stanowią cztery spójne tematycznie artykuły naukowe: trzy o charakterze prac eksperymentalnych, jedna praca przeglądowa, oraz manuskrypt pracy złożonej do redakcji. Jedna praca została opublikowana w 2015 roku, trzy prace (w tym praca przeglądowa) opublikowane zostały w 2016 roku, manuskrypt został złożony do redakcji w maju 2021 roku. Prace opublikowano w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports (JCR)*: *Journal of Elementology* (jedna praca), *Acta Physiologiae Plantarum* (dwie prace), *Journal of Plant Physiology* (jedna praca), zatem spełniają one wymóg ustawy (Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce), ostatni z manuskryptów został wydrukowany w czasopiśmie *International Journal of Molecular Sciences* po przesłaniu dokumentów do recenzji. Opis metodyki i załączone w manuskrypcie wyniki umożliwiają objęcie tej pracy recenzją, niezależnie od dnia opublikowania pracy ww. czasopiśmie. Prace, które ukazały się drukiem do dnia otrzymania przeze mnie dokumentów opublikowano w czasopismach o łącznym IF z dnia publikacji 6,689 oraz aktualnym pięcioletnim IF 8,556, o łącznej sumie punktów w.g. listy MEiN 280 - prace te były cytowane ..... razy (stan z dnia.....).

W skład omawianego cyklu wchodzi następujące publikacje:

- 1) Kołodziejczyk I., Posmyk M.M. (2016) Melatonin - a new plant biostimulator? *Journal of Elementology* 21(4): 1187-1197 - praca przeglądowa (IF 0.641, 0.781V; 14 cytowań, 40 pkt-y MEiN)
- 2) Kołodziejczyk I., Bałabusta M., Szewczyk R., Posmyk M.M. (2015) The levels of melatonin and its metabolites in conditioned corn (*Zea mays* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds during storage. *Acta Physiologiae Plantarum* 37(6): 105 (IF 1.563, 2.078V; 17 cytowań, 70 pkt MEiN)
- 3) Kołodziejczyk I., Dzitko K., Szewczyk R., Posmyk M.M. (2016a) Exogenous melatonin expediently modifies proteome of maize (*Zea mays* L.) embryo during seed germination. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 146 DOI: 10.1007/s11738-016-2166-y (IF 1.3642016, 2.078V; 12 cytowań, 70 pkt MEiN)

A. Cuias





- 4) Kołodziejczyk I., Dzitko K., Szewczyk R., Posmyk M.M. (2016b) Exogenous melatonin improves corn (*Zea mays* L.) embryo proteome in seeds subjected to chilling stress. *Journal of Plant Physiology* 193: 77-56 DOI:10.1016/j.jplph.2016.01.012. (IF 3.1212016, 3.615V; 30 cytowań\* (100A pkt MEiN)
- 5) MANUSKRYPT: Kołodziejczyk I., Kaźmierczak A., Posmyk M.M. (2021) Melatonin application modifies antioxidant defence and induces endoreplication in maize seeds exposed to chilling stress. *Praca została opublikowana w czasopiśmie Internatiol Jounl of Molecular Sciences 11 sierpnia 2021 roku (140 pkt MEiN) po otrzymaniu przeze mnie dysertacji do oceny*

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Izabeli Kołodziejczyk była finansowana w ramach projektu badawczego NCN N N310 111940 pt. "Proteomiczna analiza zmian profili białkowych w osiach zarodkowych nasion kondycjonowanych z melatoniną eksponowanych na stres chłodu podczas kiełkowania" kierowanego przez prof. Małgorzatę Posmyk

Prace stanowiące rozprawę doktorską dotyczą roli melatoniny jako biostymulatora, który znacznie podnosi korzystne działanie zabiegu hydrokondycjonowania nasion i zwiększa odporność siewek wyrastających z tak traktowanych nasion na działanie abiotycznych czynników stresowych, szczególnie chłodu. Prace te stanowią także bardzo dobrą dokumentację przeprowadzonych badań. Praca przeglądowa oraz trzy z załączonych prac eksperymentalnych przeszły proces oceny merytorycznej dokonany przez niezależnych recenzentów powoływanych przez redakcje międzynarodowych czasopism naukowych, przed przygotowaniem dysertacji. Praca załączona w dysertacji jako manuskrypt przeszła ocenę merytoryczną niezależnych ekspertów po przesłaniu dysertacji do recenzentów. Wkład mgr Izabeli Kołodziejczyk w powstanie ww. artykułów jest dominujący i wynosi wg szacunków doktorantki 90% - w publikacji nr 1 (przeglądowej) w *Journal of Elementology*, 45% w publikacji nr 2 w *Acta Physiologiae Plantarum*, 70% w publikacji nr 3 z *Acta Physiologiae Plantarum*, 70% w publikacji nr 4 z *Journal of Plant Physiology* oraz 70% w manuskrypcie złożonym do redakcji.

Jak wynika z oświadczeń, udział mgr Izabeli Kołodziejczyk w publikacjach przedstawionych jako praca doktorska polegał na: wykonaniu ogromnej większości analiz laboratoryjnych wymagających zastosowania różnorodnych technik, interpretacji znacznej części wyników oraz przygotowaniu tekstów prac, w ostatnim manuskrypcie Doktorantka jest podana także jako autor korespondujący. Do rozprawy zostały załączone również oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład rozprawy, określające procentowy wkład każdego z nich w powstanie prac wynoszący od 10% do 30%. W publikacji nr 2 udział jednego z współautorów - dr Marty Bałabusty został potwierdzony przez promotora, co jest zgodne z obowiązującymi przepisami. Przedstawione oświadczenia stanowiły podstawę uznania przeze mnie zaprezentowanego materiału jako rozprawy doktorskiej.

Prace stanowiące większą część rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w 2015 i 2016 roku wobec czego mają dużo cytowań (od 15 do 30), co wskazuje na

*A. Friedman*





znaczne zainteresowanie środowiska prezentowanymi w nich wynikami, oraz ich istotne znaczenie dla dyscypliny naukowej.

Dostarczona dokumentacja obejmuje informacje o: finansowaniu badań z funduszy NCN, współpracy w ramach której uzyskano prezentowane dane, wykaz prac wchodzących w skład rozprawy, omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników, streszczenie w języku polskim i angielskim, informacje o pozostałym dorobku naukowym Doktorantki i prowadzonej przez nią działalności naukowej oraz załączniki zawierające: kopie publikacji, złożony manuskrypt, oświadczenia współautorów oraz wydruk raportu danych bibliometrycznych z bazy Web of Science.

Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników

Rozdział pierwszy komentarza to trzy stronicowe "Wprowadzenie" zawierające przegląd podstawowego piśmiennictwa wskazującego na znaczenie hydrokondycjonowania jako metody poprawiania jakości nasion oraz rolę melatoniny jako uniwersalnego antyoksydanta. Ten stosunkowo krótki rozdział stanowi podstawę do sformułowania *Celu pracy oraz hipotez badawczych*. Kolejne podrozdziały zawierają *Metodykę badań, Omówienie wyników, Wnioski i bibliografię*. Wobec powyższego wszystkie kryteria niezbędne do przedstawienia rozprawy doktorskiej zostały spełnione pod względem formalnym. Drobna uwaga, która nasunęła mi się po przeczytaniu rozdziału "Wprowadzenie" dotyczy bardzo pobieżnego przedstawienia zbiegów kondycjonowania nasion - rozumiem, że część z informacji na ten temat znajduje się w publikacjach, ale w tym miejscu rozprawy należały dokładniej omówić różne metody kondycjonowania i wskazać dlaczego w prowadzonych badaniach wybrano właśnie hydrokondycjonowanie.

Poza pracami które stanowią przedmiot rozprawy doktorskiej, pani mgr Izabela Kołodziejczyk w dorobku naukowym posiada także 9 prac popularno-naukowych opublikowanych w czasopiśmie Ekonatura, jest współautorką 3 referatów na konferencjach krajowych, 5 plakatów na konferencjach międzynarodowych i 26 plakatów na konferencjach krajowych. Dotychczasowy dorobek naukowy pani Izabeli Kołodziejczyk wskazuje na Jej duże zaangażowanie w popularyzację wyników badań naukowych i odpowiednie kompetencje w tym kierunku.

OCENA MERYTORYCZNA

Jako cel pracy przyjęto udokumentowanie korzystnego wpływu melatoniny na metabolizm kiełkujących nasion kukurydzy cukrowej (*Zea mays* L. var. Ambrozja) i zbadanie jakie procesy stymuluje melatonina w roślinie w kontekście zwiększenia tolerancji na stres chłodu i wzmożenia procesów regeneracji po ustąpieniu stresu chłodu. Doktorantka postawiła następujące hipotezy badawcze (1) przedświeczne kondycjonowanie jest efektywną metodą podawania melatoniny do nasion, (2) znacznie podniesiony poziom melatoniny w nasionach ogranicza negatywne działanie chłodu podczas kiełkowania poprzez ograniczenie występowania wtórnego stresu oksydacyjnego, (3) celem jest prześledzenie potencjalnych zmian w proteomie zarodków kiełkujących nasion dla ustalenia procesów metabolicznych modulowanych przez kondycjonowanie i przez egzogenną melatoninę, (4) ilościowe zmiany białek

A. Cuiastek



generowane pod wpływem melatoniny są rezultatem powielenia materiału genetycznego w strefach bazalnych zarodków przez endoreplikacje.

Postawione hipotezy są co prawda zgodne z przyjętym celem, jednak mam zastrzeżenia do hipotezy 3, która nie spełnia warunków hipotezy badawczej; jest to raczej pytanie dotyczące zmian obserwowanych na poziomie proteomu nasion, które wywoływane są przez podanie melatoniny i powinna brzmieć: 3) stosowanie melatoniny podczas zabiegu hydrokondycjonowania wywołuje zmiany ilościowe i jakościowe w proteomie zarodków kiełkujących nasion. Wówczas hipoteza 4 stanowi logiczną kontynuację cyklu badań (o czym zresztą pisze Doktorantka w ostatniej pracy - manuskrypcie). W kolejnym paragrafie mgr Izabela Kołodziejczyk opisała etapy doświadczeń prowadzące do realizacji postawionego celu. Szkoda, że nie zaznaczyła, w której z prac stanowiących rozprawę były one opisane.

Omówienie poszczególnych prac wchodzących w skład rozprawy

Praca nr 1 jest obszernym opracowaniem teoretycznym, w którym przedstawiono drogę biosyntezy melatoniny, jej występowanie i korzystne oddziaływanie w warunkach stresów w organizmach roślinnych. W pracy tej wskazano również na możliwość wykorzystania melatoniny jako roślinnego biostymulatora. Z tego względu oceniam, że stanowi ona bardzo dobry wstęp i uzasadnienie podjętych przez Doktorantkę badań.

W publikacjach eksperymentalnych 2-3 Materiał badawczy stanowiły nasiona kukurydzy cukrowej (*Zea mays* L., var. Ambrozja) kiełkujące w temperaturze optymalnej 25°C, nie traktowane (NT), poddane zabiegowi hydrokondycjonowania (H) oraz hydrokondycjonowane w roztworach wodnych melatoniny o dwóch stężeniach 50 µM i 500 µM (odpowiednio: HMel 50 i HMel 500). Niższe stężenie melatoniny zostało określone jako optymalne – tak traktowane nasiona osiągały najlepsze wyniki w testach fizjologicznych; natomiast 500 µM melatoninę zastosowano dla obserwowania efektów przedawkowania. W pracy 4 i manuskrypcie nr 5 materiałem badawczym były nasiona traktowane jak w poprzednich pracach lecz kiełkujące w temperaturze chłodowej 5°C oraz wyrastające z nich siewki oraz siewki po 24 godz. regeneracji w optymalnej temperaturze (manuskrypt 5).

W pracy nr 2 stosując metodę HPLC-MS oznaczono zawartość melatoniny w ziarniakach kukurydzy poddanych zabiegom hydrokondycjonowania z melatoniną i zmiany zawartości tego związku następujące podczas rocznego przechowywania hydrokondycjonowanych nasion. Doktorantka wykazała, że nasiona nietraktowane melatoniną (NT i H) podczas przechowywania w kontrolowanych, stałych warunkach wykazywały sezonowe zmiany stężenia melatoniny, ze znacznym ok. 3- krotnym wzrostem zawartości tego związku w miesiącach zimowych. Te sezonowe zmiany mogą sugerować istnienie „pamięci biochemicznej” por roku, tj. zegara biologicznego, który działa jako kalendarz biochemiczny regulowany właśnie przez melatoninę. Podczas 12 miesięcznego przechowywania nasion kukurydzy traktowanych melatoniną w czasie hydrokondycjonowania (HMel 50 i HMel 500) obserwowano stopniowe obniżenie zawartości melatoniny. Doktorantka zidentyfikowała w nasionach trzy główne pochodne melatoniny (beta-hydroksymelatoninę, 3-(etano-1-ol)-5-metoksyindol i cykliczną melatoninę), będące produktami utleniania melatoniny. Na tej podstawie



zasugerowała, że podczas przechowywania nasion melatonina ulega utlenianiu i dzięki temu, chroni zarodek przed stresem oksydacyjnym zapobiegając uszkodzeniom powstającym w trakcie długotrwałego przechowywania.

Zaproponowana w tej pracy idea funkcjonowania pamięci biochemicznej w kontekście rozpoznawania pór roku jest bardzo interesująca, chciałabym prosić Doktorantkę o rozwinięcie tego tematu podczas obrony i przedstawienie innych hipotez funkcjonowania u roślin swego rodzaju "pamięci".

W pracy nr 3 Doktorantka stosując rozdzielanie białek 2D, identyfikację białek metodą LC-MS/MS i analizę bioinformatyczną przeanalizowała zmiany proteomu w zarodkach ziarniaków kukurydzy NT, H, HMel 50 i HMel 500 kiełkujących w warunkach optymalnych - w temperaturze 25°C. Wykazała, że zabieg hydrokondycjonowania modyfikuje proteom nasion. Porównując mapy białkowe zarodków nasion kiełkujących w 25°C stwierdzono, że przy stałej puli 129 białek typowych dla wszystkich badanych nasion, zabieg hydrokondycjonowania powodował pojawienie się dodatkowych 14 białek, a dodanie melatoniny w czasie hydrokondycjonowania skutkowało występowaniem dodatkowych 14 białek wspólnych dla obu dawek melatoniny (50 i 500 µM) i 23 charakterystycznych tylko dla HMel 50 oraz 3 charakterystycznych dla HMel 500. Melatonina spowodowała, w stosunku do nasion NT i H, obecność większej ilości białek metabolizmu energetycznego, białek usprawniających biosyntezę, składanie i transport białek do miejsc ich funkcjonowania, a także białek komórkowego systemu detoksykacji, białek obronnych i anty-stresowych. Doktorantka wskazała, że białka te są bardzo często uważane za markery jakości nasion, zatem ich obecność po zastosowaniu melatoniny, częściowo może tłumaczyć to, że wyrastające z takich nasion siewki są silniejsze i lepiej adaptują się do stresowych warunków środowiska. W ten sposób mogłoby się ujawniać profilaktyczne działanie melatoniny. Uważam, że wyniki prezentowane w pracy nr 3, mają bardzo istotne znaczenie dla wyjaśnienia korzystnego efektu zabiegu hydrokondycjonowania nasion jak również wskazują na molekularne podstawy stosowania melatoniny jako biostymulatora.

Praca nr 4 (w której zastosowano analogiczne metody badawcze jak w pracy nr 3) dotyczy modyfikacji w proteomie zarodków kukurydzy izolowanych z ziarniaków poddanych hydrokondycjonowaniu z melatoniną, podczas ich kiełkowania w warunkach chłodu (5 °C). Pani mgr Izabela Kołodziejczyk wykazała na mapach białkowych zarodków ziarniaków kiełkujących w 5°C, obecność 78 białek typowych dla wszystkich testowanych ziarniaków. Według danych tu prezentowanych zabieg hydrokondycjonowania prowadził do pojawienia się w warunkach stresu dodatkowych 3 białek, 5 białek było wspólnych dla nasion H i HMel (zarówno 50 jak i 500 M); 6 typowych dla HMel; 2 dla HMel 50 i 5 dla HMel 500. Białka występujące w tkankach traktowanych melatoniną wiązały się z mobilizacją materiałów zapasowych, metabolizmem oddechowym i gospodarką energetyczną. Ponadto w osiach zarodkowych izolowanych z ziarniaków traktowanych melatoniną pojawiało się znacznie więcej białek stresowych, obronnych i należących do grupy białek systemu detoksykacji, kilka specyficznych białek, które mogą pełnić rolę selekcyjnych ligaz E3 w roślinnym ubikwityno-zależnym systemie degradacji protein, a także szereg dodatkowych białek o charakterze opiekuńczym (ang. *chaperons*). Istotnym wynikiem tej pracy jest



wykazanie, że wzbogacenie hydrokondycjonowania o podanie melatoniny zwiększa tolerancję siewek wyrastających z nasion poddanych temu zabiegowi na stres temperatury chłodowej poprzez istotne zmiany w proteomie zarodków. Ta obserwacja była punktem wyjścia do przeprowadzenia badań opisanych w manuskrypcie 5.

W tym miejscu chciałbym dowiedzieć się czy stosowanie np. dolistne melatoniny na siewki w okresie poprzedzającym występowanie stresu np. niskiej temperatury, także byłoby korzystne dla dalszego wzrostu roślin i czy prewencyjne działanie melatoniny dotyczy także innych stresów abiotycznych.

Praca nr 5 - jest manuskryptem, który w okresie gdy praca doktorska podlegała recenzjom został opublikowany w czasopiśmie International Journal of Molecular Science 22(16): 8628, DOI: 10.3390/ijms22168628.

Praca ta dotyczy biostymulujących właściwości melatoniny stosowanej do nasion kukurydzy w czasie hydrokondycjonowania, w szczególności prewencyjnego działania melatoniny w warunkach stresu chłodu. Doktorantka wykonała oznaczenia na poziomie fizjologicznym, biochemicznym i cytologicznym nasion nietraktowanych (NT), hydrokondycjonowanych wodą (H) i wodnymi roztworami melatoniny o stężeniach 50 i 500  $\mu\text{M}$  (odpowiednio HMel 50 i HMel 500), które poddano imbibicji/kiełkowaniu w temperaturze 5°C oraz regeneracji w 25 °C przez 1 dzień. Wykazała, że zastosowanie melatoniny podczas hydrokondycjonowania nasion poprawiło ich kiełkowanie i stymulowało wzrost osi zarodkowych w warunkach stresu chłodu (5°C) oraz po usunięciu stresora, podczas regeneracji. Aktywność antyoksydacyjną melatoniny potwierdziła obniżona zawartość produktów utleniania lipidów oraz utlenionych białek (oznaczonych jako zawartość grup karbonylowych białek) w osiach zarodkowych nasion traktowanych melatoniną (50 i 500  $\mu\text{M}$ ) poddanych działaniu chłodu. Analizowano również aktywność podstawowych enzymów antyoksydacyjnych (KAT, SOD, GPX, APX) i detoksykujących (GPX, GR i GST), przy czym korzystne działanie melatoniny na aktywność enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego ujawniło się szczególnie w okresie regeneracji siewek, wyrastających z nasion które podlegały hydrokondycjonowaniu z dodatkiem melatoniny.

Najciekawszym wynikiem tej pracy jest wykazanie, że melatonina indukuje endoreplikację w komórkach osi zarodkowych nawet w nasionach kiełkujących w optymalnych warunkach (działanie zapobiegawcze) i bardzo intensywnie w ziarniakach kiełkujących w warunkach stresowych (działanie interwencyjne) oraz po usunięciu stresu, aby poprawić proces regeneracji.

Dodatkowo w manuskrypcie Doktorantka umieściła także dane dotyczące zawartości melatoniny oraz IAA w ziarniakach nie traktowanych, hydrokondycjonowanych i hydrokondycjonowanych z melatoniną, wskazujące na obniżenie zawartości IAA w materiale traktowanym melatoniną. Ten wynik w interesujący sposób przedyskutowała w kontekście zwiększonej endoreplikacji. Założony cel badań Doktorantka zrealizowała stosując dobrze dobrane klasyczne i zaawansowane metody badawcze (oznaczenia spektrofotometryczne, HPLC-EC, mikroskopia fluorescencyjna). Opis metod badawczych jest prawidłowy i bardzo wyczerpujący, a prezentacja wyników jasna i czytelna. Szczególnie podobają mi się opisy do rysunków, które przy stosunkowo skomplikowanym modelu badawczym są wyjątkowo informatywne.

A. Cuiśolub





W tym miejscu pragnę wskazać, że w każdej z prac wyniki przedstawiono w sposób jasny i w logicznej kolejności, zostały one prawidłowo zinterpretowane oraz przedyskutowane z najnowszą literaturą z zakresu tematu pracy. Dobór i sposób omawiania literatury przedmiotu oraz rzetelna dyskusja własnych wyników potwierdzają wysoki poziom wiedzy pani mgr Izabeli Kołodziejczyk w zakresie biologii nasion, funkcjonowania systemu antyoksydacyjnego i działania melatoniny jako biostymulatora. Sformułowane w rozprawie wnioski są adekwatne do uzyskanych wyników i w pełni uzasadniane.

Na zakończenie mam pewne uwagi natury redakcyjnej odnoszące się do omówienia wyników badań w dysertacji. Doktorantka zapewne tłumacząc na język polski fragmenty opublikowanych prac w języku angielskim nie ustrzegła się makaronizmów i żargonu laboratoryjnego, czego przykładem jest użycie sformułowań: "akcelerować odporność/tolerancję" (str. 8) "spot białkowy" (str. 12), "mobilizacja zasobów" (str. 13), czy "komórki akceleraują wzrost" (str. 19). W omówieniu wyników znalazły się też stwierdzenia, że przeprowadzono "analizy proteomów ekstrahowanych z zarodków" (str. 17) raczej mówi się o ekstrakcji białek, które składają się na proteom; bądź obserwowano "spadek tej indoloaminy" - oczywiście powinno być "obniżenie stężenia tej indoloaminy" ( str. 15). Chciałbym też zwrócić uwagę, że organy rośliny, nasiona podlegają działaniu danego związku podawanego w różnych stężeniach, a nie jak pisze Doktorantka poddanie roślin działaniu danego stężenia melatoniny (str. 8). W kilku miejscach pojawiają się inne niezręczności językowe (np. "niezwykle wydajna funkcjonalność" - w odniesieniu do aktywności enzymatycznej czy "korzystna pula glutationu", na str. 17, "własności sankcjonują obecność MEL" - uzasadniają lub tłumaczą na str. 8), lub literówki. Nie podoba mi się używane przez Doktorantkę sformułowanie "warianty nasion", które należałoby zastąpić opisowym nasiona/ziarniaki nietraktowane i nasiona/ziarniaki poddane zabiegowi hydrokondycjonowania lub hydrokondycjonowania z melatoniną, ale jest to kopia z opisów w języku angielskim w opublikowanych pracach. W spisie literatury Doktorantka nie ustrzegła się błędów edytorskich (np. drobnych błędów literowych, nazwy czasopisma podane są zarówno w skrótach jak i w pełnej nazwie, występuje niejednolita interpunkcja). Przyznam, że pewną niedogodność stanowiło dla mnie umieszczenie przez Doktorantkę streszczenia pracy na końcu, po rozdziale "Omówienie celu naukowego i wyników". Wydaje mi się, że tak jak ma to miejsce w innych pracach dyplomowych oraz publikowanych artykułach streszczenie powinno znajdować się na początku dysertacji.

#### Podsumowanie

1. Wysoko pod względem merytorycznym oceniam napisane przez mgr Izabelę Kołodziejczyk opublikowane oryginalne prace twórcze, prace przeglądową, załączony manuskrypt pracy złożonej do redakcji oraz komentarz w języku polskim będący omówieniem celu naukowego i uzyskanych wyników. Rozdział ten jest napisany czytelnie i jasno. Jednak brakuje w nim syntetycznego ujęcia prezentowanych wyników np. w formie schematu prezentującego mechanizm działania melatoniny. Stworzenie

A. Ciołek 7



takiego podsumowania potwierdziłoby zdolności wnioskowania i uogólniania danych. W komentarzu brakuje też spojrzenia w przyszłość i zaproponowania kolejnych badań.

2. Mgr Izabela Kołodziejczyk w czasie realizacji celów pracy doktorskiej przeanalizowała bogatą literaturę, co wskazuje na dobrą orientację w problematyce badawczej, świadczy o tym publikacja przeglądowa nr 1, a także podrozdział *Wprowadzenie* w omawianej dysertacji. Literatura cytowana w komentarzu w języku polskim nie jest szczególnie obszerna, ale adekwatna do omawianego tematu.

3. Doktorantka wykazała się nie tylko wysokim poziomem wiedzy teoretycznej, ale także zdolnością opanowania różnych, skomplikowanych technik laboratoryjnych, a także zmysłem analitycznym potrzebnym do opanowania dużej liczby danych empirycznych. Badania proteomiczne wymagają bowiem dużej biegłości w zakresie analiz bioinformatycznych.

4. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki zasługują na zainteresowanie i uwagę badaczy zajmujących się tematyką dotyczącą poprawy jakości nasion i roli melatoniny jako antyoksydanta i biostymulatora. Zapewne mogą być także bardzo interesujące dla firm nasiennych.

5. Otrzymane przez Doktorantkę interesujące wyniki, które zostały opublikowane w latach 2015-2016 w średnich i dobrych specjalistycznych czasopismach naukowych są wielokrotnie cytowane, co wskazuje, że zostały docenione przez środowisko naukowe. Natomiast ostatnia z prac (złożona w doktoracie w formie manuskryptu) została opublikowana w czasopiśmie o wysokim IF (5, 921), można się zatem spodziewać że będzie miała w przyszłości jeszcze więcej cytowań.

Uważam, że otrzymane przez mgr Izabelę Kołodziejczyk wyniki badań, stanowiące przedmiot rozprawy doktorskiej, wnoszą nowe informacje do współczesnej biologii roślin w zakresie biologii nasion, w szczególności dotyczącej poprawy jakości nasion, a także znacznie poszerzają wiedzę na temat roli melatoniny w komórkach roślinnych. Pragnę równocześnie podkreślić, że zawarte w recenzji komentarze i sugestie nie pomniejszają wartości merytorycznej pracy.

#### Wnioski końcowe

W mojej ocenie rozprawa mgr Izabeli Kołodziejczyk pt. "Egzogenna melatonina jako czynnik modyfikujący metabolizm kiełkujących nasion kukurydzy (*Zea mays* L.)" spełnia wszystkie wymagania określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30 października 2015 r., w związku z art. 179. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. Poz. 1669). Na tej podstawie wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o przyjęcie

A. Cuijola





przedstawionej rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Izabeli Kołodziejczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wkład pracy Doktorantki, opublikowanie wyników badań w dobrych czasopismach, zastosowanie do realizacji celu pracy szeregu nowoczesnych metod badawczych oraz ze względu na aplikacyjne znaczenie wyników badań wnioskuję o wyróżnienie pracy.

*A. Gniardowska*

---

**Szkoła Główna  
Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

**Instytut Biologii  
Katedra Fizjologii Roślin**

**prof. dr hab. Agnieszka  
Gniardowska-Piekarska**

ul. Nowoursynowska 159  
02-776 Warszawa  
+48 22 59 325 10  
agnieszka\_gniardowska@sggw.  
edu.pl  
www.sggw.pl