

**Formularz recenzji rozprawy doktorskiej**  
**Wydziału Biologii**  
**Uniwersytetu Jagiellońskiego**

**Imię i nazwisko** Kandydatki: mgr Kornelia Duchnik

**Tytuł rozprawy doktorskiej:** Charakterystyka fizjologicznych i biochemicznych reakcji indukowanych allelopatycznym oddziaływaniem sinicy *Cylindrospermopsis raciborskii* i makrofitu *Lemna trisulca* L.

**Promotor:** Prof. dr hab. Jan Białczyk

**Promotor pomocniczy:** dr Ewelina Chrapusta-Srebrny

**Recenzent:** Prof. dr hab. Konrad Wołowski

**1. Wartość naukowa rozprawy:**

Tematyka recenzowanej rozprawy mgr Kornelii Duchnik doskonale wpisuje się w aktualną tematykę badawczą, bowiem dotyczy interakcji między organizmami w tym przypadku cyjanobakteriami (sinicami) i roślinami naczyniowymi występującymi w tych samych siedliskach słodkowodnych. Zjawiskiem tym, zwanym „allelopatią” zajmował się już w 1937 roku znany badacz austriacki profesor Hans Molisch, który wprowadził pojęcie allelopatii do określenia wzajemnego oddziaływania pomiędzy organizmami roślinnymi, poprzez wydzielanie związków chemicznych. Obecnie wobec zachodzących zmian w środowisku wodnym na skutek ocieplenia klimatu należy coraz częściej spodziewać się nadmiernego rozwoju (zakwitu) cyjanobakterii, tak więc zasadnym jest dokładne, wielowątkowe zbadanie oddziaływania jednej z najsilniej działających toksyn cyjanobakterii cylindrospermopsyny, produkowanej przez *Raphidiopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Aguilera, Berrendero Gómez, Kastovsky, Echenique & Salerno (= *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Seenaya & Subba Raju) na *Lemna trisulca* Linneus.

Rozprawa doktorska mgr Kornelii Duchnik ma charakter eksperymentalny. Realizacja postawionego celu, czyli wyjaśnienia na poziomie fizjologicznym i biochemicznym mechanizmów oddziaływania cylindrospermopsyny na makrofity, przebiegała w oparciu o badania laboratoryjne. Rezultaty badań Doktorantka przedstawiła na 159 stronach starannie przygotowanego maszynopisu w XI logicznie powiązanych rozdziałach. Wstęp pracy poprzedzony streszczeniem i pełnym wykazem używanych skrótów, składa się z trzech podrozdziałów. W pierwszym Doktorantka przedstawiła osiągnięcia w zakresie badań nad toksynami syntetyzowanymi przez cyjanobakterie, trafnie zestawiając najważniejsze dane o nich w tabeli. Drugi podrozdział zawiera pełne informacje o cylindrospermopsynie, jej producentach, właściwościach fizykochemicznych oraz warunkach wpływających na jej syntezę i bioakumulację. Zwinięcie całości wstępu stanowią bardzo ciekawie zestawione dotychczasowe osiągnięcia w badaniach nad toksycznością cylindrospermopsyny, co umiejętnie wprowadza nas w zakres prowadzonych badań przez Doktorantkę. Każdy z podrozdziałów wstępu jest napisany poprawnie i nadaje się na osobny artykuł popularno-naukowy. Tutaj pragnę podkreślić, że Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością literatury przedmiotu. Dalej w osobnym rozdziale przedstawiła cel i hipotezy pracy ujmując je bardzo ciekawie, bo w świetle znanych wcześniej badań nad zjawiskiem oddziaływania cylindrospermopsyny na organizmy roślinne i zwierzęce. W tym kontekście do rozwiązania problemów badawczych trafnie zaplanowała do wykonania szereg szczegółowych zadań dla przeprowadzenia obserwacji długookresowego oddziaływania różnych stężeń cylindrospermopsyny na główne procesy fizjologiczne i odpowiedź stresową makrofitu *L. trisulca*; dla oceny zmian stężeń cylindrospermopsyny w pożywkach podczas kultywacji *L. trisulca* i poznania mechanizmów transportu cylindrospermopsyny do komórek

roślinnych; określenia fizjologicznych i biochemicznych reakcji indukowanych wspólną kultywacją makrofitu i cyjanobakterii oraz ich stopnia interakcji.

Jak zwykle w badaniach eksperymentalnych, poprawne dobranie i logicznie zaplanowane metod badawczych wymaga dużych kwalifikacji czym wykazała się Doktorantka przedstawiając na 23 stronach jasno określone i zastosowane metody. Niewątpliwie długookresowa kultywacja makrofitu, a potem wspólna kultywacja *L. trisulca* i *Raphidiopsis raciborskii* (*C. raciborskii*) wymagała od Doktorantki bardzo dobrej znajomości metod badawczych wykorzystywanych w fizjologii i biochemii zarówno roślin naczyniowych jak i cyjanobakterii. Nie mam wątpliwości co do doboru metod badawczych i sposobu ich prowadzenia bowiem, uzyskane wyniki dowiodły tej słuszności.

Doktorantka przedstawiła wyniki na 55 stronach maszynopisu. Rozdział jest opracowany bardzo starannie, wszelkie zestawienia liczbowe i porównania ilustrowane są graficznie, co ułatwia ich czytanie i interpretację. Niewątpliwie, do najbardziej wartościowych wyników opisanych w rozprawie Pani mgr Kornelii Duchnik należą:

- udowodnienie, że *L. trisulca* ma wyjątkowo wysoką odporność na oddziaływanie cylindrospermopsyny, bowiem wytrzymuje stężenia 10-krotnie przewyższające wartości spotykane w warunkach naturalnych, a jej stężenia w środowisku naturalnym nie wpływają na kinetykę procesów fizjologicznych makrofitu;

- opisanie po raz pierwszy zmian wartości stężeń wybranych kationów i anionów uwalnianych do środowiska zewnętrznego przez *L. trisulca*, wskazuje jednoznacznie, że obecność toksyn wpływała istotnie na stopień integralności błon biologicznych makrofitu, tym samym na stan homeostazy jonów mineralnych w komórkach;

- wykazanie, że cylindrospermopsyna nie jest akumulowana i biodegradowalna w tkankach *L. trisulca*;

- wykazanie, że w trakcie wspólnej kultywacji *L. trisulca* i *R. raciborskii* (*C. raciborskii*) następuje nieznaczne zahamowanie przyrostu biomasy *L. trisulca* i ograniczenie rozwoju cyjanobakterii *R. raciborskii* (*C. raciborskii*), tym samym obniżenie zawartości toksyn w środowisku.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że wyniki badań zawarte w pracy doktorskiej pani mgr Kornelii Duchnik stanowią pierwsze kompleksowe doniesienie naukowe opisujące oddziaływanie cylindrospermopsyny na wybrane procesy fizjologiczne i biochemiczne makrofitu *L. trisulca*.

## **2. Wartość merytoryczna rozprawy**

Wartość merytoryczną rozprawy Kornelii Duchnik oceniam bardzo dobrze biorąc pod uwagę przede wszystkim: szczegółowe zbadanie i opisanie zjawiska akumulacji biomasy przez *L. trisulca* w zależności od czasu oddziaływania i stężenia toksyn w pożywce; określenie wpływu cylindrospermopsyny na przebieg procesów fotosyntezy oraz syntezę białek i przebieg absorpcji jonów z pożywki przez obydwa organizmy; zbadanie efektów wspólnej kultywacji makrofitu i cyjanobakterii w aspekcie zmian ich biomasy, poziomu akumulacji stężenia cylindrospermopsyny w komórkach badanych organizmów.

Przedstawione w pracy wyniki mają też wartość aplikacyjną bowiem doktorantka wskazała na możliwość wykorzystania ich do adaptacji *L. trisulca* do biodegradacji cylindrospermopsyny ze środowiska, a także ograniczania w sposób naturalny nadmiernego rozwoju cyjanobakterii w środowisku naturalnym przez ukierunkowaną kultywację *L. trisulca*. W mojej ocenie dużym atutem rozprawy jest przeprowadzona obszerna dyskusja, w której autorka odnosi się do już znanych i podobnych wyników badań nad wpływem cylindrospermopsyny na organizmy roślinne, a jej wynikami. Skrupulatnie porównuje je i wyjaśnia różnice. Budujące jest też to, że Doktorantka nie zamyka problemu allelopatii na poziomie przedstawionej rozprawy, bowiem w tekście można znaleźć ciekawe sugestie prowadzenia dalszych badań zmierzających do poznania mechanizmów transportu cylindrospermopsyny do komórek roślinnych, co świadczy o emocjonalnym zaangażowaniu się Doktorantki w prace naukowe.

### **3. Poprawność redakcyjna rozprawy**

Doktorantka posługuje się w całym tekście rozprawy bardzo ładną polszczyzną. Styl jest logiczny, zwięzły, prosty i zrozumiały dla czytelnika. Umiejętnie cytuje dane ze 169 pozycji literatury. Rozprawa została przygotowana poprawnie pod względem edytorskim jej układ nie budzi zastrzeżeń. Zestawienia tabelaryczne, graficzne i opracowanie danych nie budzi zastrzeżeń.

### **4. Uwagi krytyczne**

Moje uwagi krytyczne są przede wszystkim natury taksonomicznej i dotyczą:

- użycia przez Doktorantkę w całej rozprawie starej nazwy *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Seenaya & Subba Raju, zsynonimizowanej ze względu na przeprowadzone w 2018 roku badania molekularne. Gatunek ten reklasyfikowano i przeniesiono do rodzaju *Raphidiopsis* pod nazwą *Raphidiopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Aguilera, Berrendero Gómez, Kastovsky, Echenique & Salerno, konieczne jest wprowadzenie tych zmian w całym tekście przed opublikowaniem;

- niezastosowania przez Doktorantkę poprawnego cytowania nazw łacińskich, bowiem nazwiska autorów gatunków podaje się przy pierwszym użyciu np. *Lemna trisulca* Lineus; *Raphidiopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Aguilera, Berrendero Gómez, Kastovsky, Echenique & Salerno, (= *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wołoszyńska) Seenaya & Subba Raju), *Thamnocephalus platyurus* Packard, dotyczy to też innych używanych nazw gatunków w całym tekście rozprawy, konieczne jest też podawanie w niektórych miejscach pełnej nazwy rodzajowej, bo używane skróty przy dużej liczbie podawanych nazw mogą być mylnie odczytane;

- braku przynajmniej podstawowych informacji o autekologii taksonów będących obiektami badań tj. *Lemna trisulca* i *Raphidiopsis raciborskii* (= *Cylindrospermopsis raciborskii*);

- braku dokumentacji fotograficznej badanych obiektów co obniża wartość poznawczą pracy, sugeruję więc przed oddaniem pracy do druku zamieścić ilustracje badanych obiektów;

- należy w tabeli nr. 1 str. 19 uściślić określenie nagłówka z 4-ej kolumny i dodać np. „rodzaje głównych producentów toksyn”

### **5. Ocena końcowa**

Podsumowując, stwierdzam, że badania przeprowadzone przez Panią mgr Kornelię Duchnik wniosły nowe dane do poznania zjawiska allelopatii w szczególności na poziomie organizmów prokariotycznych i eukariotycznych. Uważam, że rozprawa ta jest oryginalnym osiągnięciem doktorantki, bowiem po raz pierwszy kompleksowo opisała biochemiczne i fizjologiczne reakcje indukowane allelopatycznym oddziaływaniem makrofitu *L. trisulca* i cyjanobakterii *Raphidiopsis raciborskii* w czasie wspólnej kultury. Wyniki te mogą dać podstawę do opracowania modelu do prowadzenia obserwacji tych zjawisk w środowisku naturalnym. Mgr Kornelia Duchnik wykazała się umiejętnością właściwego doboru metod badawczych, znajomością literatury przedmiotu i profesjonalnym jej wykorzystaniem (169 pozycji). Uwagi i propozycje zmian, wskazane przeze mnie nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy.

Ja niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Kornelii Duchnik spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr. 65 poz. 595 z późn. zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgr Kornelii Duchnik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

30. 05. 2019

.....  
data sporządzenia recenzji

*K. WOKOŃKA*

.....  
podpis recenzenta