

Rzeszów, 26.01.2026 r.

dr hab. Renata Zadrąg-Tęcza, prof. UR  
Instytut Biologii, Ochrony Przyrody i Zrównoważonego Rozwoju  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów

## Recenzja rozprawy doktorskiej

Pana mgra Mateusza Wróblewskiego

pt. „Ocena fitotoksyczności i selektywności olejku tatarakowego oraz ustalenie docelowych miejsc jego oddziaływania w korzeniach zarodkowych dwóch gatunków uprawnych (*Vicia faba* L. var. *minor* i *Lupinus luteus* L.) oraz sagetalnych (*Brassica napus* L. i *Arabidopsis thaliana* L.)

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgra Mateusza Wróblewskiego została wykonana pod kierunkiem naukowym promotora Pani dr hab. Justyny T. Polit, prof. UŁ oraz promotora pomocniczego Pani dr hab. Alicji Piotrowskiej-Niczyporuk w Katedrze Cytofizjologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Problematyka podjęta w rozprawie doktorskiej dotyczy możliwości wykorzystania olejków eterycznych jako biopreparatów stanowiących alternatywę dla powszechnie stosowanych w ochronie roślin środków chemicznych. Zagadnienie to nabiera szczególnego znaczenia w kontekście współczesnych wyzwań stojących przed rolnictwem, w którym dominują tradycyjne preparaty o udokumentowanym negatywnym wpływie na środowisko. Wiele stosowanych obecnie substancji chemicznych wykazuje niekorzystnie działanie względem organizmów wodnych, glebowych czy zapylaczy, a także potencjalnie szkodliwe działanie względem ssaków, w tym człowieka. Jednocześnie narasta problem zanieczyszczenia gleby i wód, a także obserwuje się rosnącą odporność chwastów i szkodników na substancje aktywne, co stopniowo obniża skuteczność stosowanych herbicydów. Wszystkie te czynniki uzasadniają potrzebę ograniczania chemicznych metod ochrony roślin oraz poszukiwania rozwiązań mniej obciążających ekosystemy.

W tym kontekście olejki eteryczne, będące produktami wtórnego metabolizmu roślin, wydają się być wyjątkowo obiecującym kierunkiem badań ze względu na swoje szerokie spektrum aktywności biologicznej, obejmujące działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwgrzybicze oraz antyoksydacyjne. Właściwości te wynikają głównie z obecności różnorodnych związków aktywnych, takich jak terpeny, fenylopropanoidy, alkohole, aldehydy czy estry. Złożone mieszaniny tych metabolitów poza ogólnym efektem fitotoksycznym, mogą

w istotny sposób zaburzać kluczowe procesy komórkowe. Liczne badania wskazują także, że olejki eteryczne skutecznie hamują podstawowe procesy fizjologiczne roślin, w tym kiełkowanie, co potwierdza ich potencjał jako bioherbicydów lub składników biopreparatów ograniczających rozwój chwastów, patogenów czy szkodników. Rosnące zainteresowanie preparatami naturalnymi, a także presja ze strony konsumentów i ustawodawców na redukcję stosowania chemicznych pestycydów, dodatkowo wzmacniają zasadność prowadzenia prac nad bioherbicydami. Naturalne substancje roślinne – w tym olejki eteryczne – postrzegane są jako zdecydowanie bezpieczniejsze, o ile stosuje się je w odpowiednich dawkach, w przeciwieństwie do środków syntetycznych, których działania niepożądane zostały szeroko udokumentowane. Warto podkreślić, że biopreparaty roślinne nie kumulują się w środowisku, ulegają biodegradacji i nie stanowią zagrożenia dla organizmów pożytecznych, takich jak zapylacze czy dżdżownice, co czyni je kluczowymi elementami wspierającymi równowagę ekologiczną.

Wszystkie te argumenty jednoznacznie wskazują, że rozwój biopreparatów opartych na olejkach eterycznych jako alternatywy dla herbicydów chemicznych jest działaniem w pełni uzasadnionym, potrzebnym i zgodnym z kierunkiem rozwoju nowoczesnej nauki, polityki środowiskowej oraz rynkowych oczekiwań wobec bardziej zrównoważonych metod ochrony roślin. Z uwagi na to, projektowanie, testowanie i doskonalenie biopreparatów roślinnych, w tym tych bazujących na olejkach eterycznych, jest nie tylko zasadne, lecz wręcz strategiczne dla przyszłości rolnictwa, bezpieczeństwa żywnościowego czy ochrony środowiska. Jednocześnie, mimo wysokiego potencjału biologicznego olejków eterycznych, konieczne są dalsze badania dotyczące mechanizmu ich działania – w szczególności w zakresie oceny ryzyka i toksyczności, różnic w efektywności zależnych od formy podawania preparatu czy fazy wzrostu rośliny. Z tego względu podjęta przez Doktoranta tematyka ma istotne znaczenie dla rozwoju wiedzy, a także dla jej praktycznego wykorzystania w kierunku opracowania bezpiecznych i skutecznych biopreparatów.

### Ocena merytoryczna pracy

Na przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską Pana mgra Mateusza Wróblewskiego składa się zbiór pięciu prac w tym: czterech opublikowanych, oryginalnych artykułów naukowych oraz jednego nieopublikowanego manuskryptu. Prace te stanowią spójny cykl tematyczny, co tym samym spełnia wymagania ustawowe. Publikacje zostały poprzedzone obszernym autorskim komentarzem obejmującym: Listę publikacji będących podstawą rozprawy wraz z danymi bibliometrycznymi, Streszczenie (w języku polskim i angielskim), Wprowadzenie, Cel pracy i hipotezy badawcze, Metodyka badań, Omówienie wyników, Wnioski, zarówno te ogólne jak i dotyczące poszczególnych prac oraz Bibliografię. Rozdział oznaczony nr 7 przedstawia natomiast dorobek naukowy Doktoranta. Pozostałą część stanowią reprinty publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, manuskrypt złożony do czasopisma *The Plant Journal* oraz oświadczenia współautorów, dotyczące ich udziału w poszczególnych pracach.

Wchodzący w skład rozprawy doktorskiej cykl publikacji obejmuje następujące prace:

1. Szczeblewski P., Wróblewski M., Borzyszkowska-Bukowska J., Bairamova T., Górka J., Laskowski T., Samulewicz A., Kosno M., Sobiech Ł., Polit J.T., Kukula-Koch W. The role of centrifugal partition chromatography in the removal of  $\beta$ -asarone from *Acorus calamus* essential oil. *Scientific Reports*. 2022, 12, 22217
2. Wróblewski M., Piotrowska-Niczyporuk A., Ciereszko I., Gocek N., Żabka A., Szczeblewski P., Sobiech Ł., Saja-Garbarz D., Polit J.T. Phytotoxicity and bioherbicidal potential of sweet flag (*Acorus calamus* L.) essential oil on Fabaceae and Brassicaceae species. *Scientia Horticulturae*. 2025, 347: 114180
3. Wróblewski M., Krajewski K., Gocek N., Żabka A., Polit J.T. *Acorus calamus* L. Essential Oil Induces Oxidative Stress and DNA Replication Disruptions in Root Meristem Cells of Two Fabaceae and Two Brassicaceae Species. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025, 26(10):4715
4. Wróblewski M., Gocek N., Żabka A., Polit J.T. Mitotic Disruption and Cytoskeletal Alterations Induced by *Acorus calamus* Essential Oil: Implications for Bioherbicidal Potential. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025, 26(18):8933
5. Wróblewski M., Gocek-Szurtek N., Krajewski K., Żabka A., Polit J.T. Ultrastructural, signalling and epigenetic responses to *Acorus calamus* L. essential oil in root meristems of Fabaceae and Brassicaceae seedlings. *The Plant Journal (praca złożona do redakcji)*

Prace 1-4 zostały opublikowane w latach 2022 - 2025 w recenzowanych, renomowanych czasopismach z listy JCR o wysokich współczynnikach wpływu: *Scientific Reports* (IF 3,9), *Scientia Horticulturae* (IF 4,2), *International Journal of Molecular Sciences* (IF 4,9) (dwa artykuły), natomiast nieopublikowana praca została złożona do czasopisma *The Plant Journal* (IF 5,7). Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej opiera się przede wszystkim na analizie oryginalności zaproponowanego problemu badawczego, adekwatności zastosowanego podejścia metodycznego, jakości i wartości uzyskanych wyników, sposobu ich prezentacji oraz interpretacji w odniesieniu do dostępnych danych literaturowych. W przypadku rozprawy doktorskiej opartej na cyklu publikacji kluczowe znaczenie ma jednoznaczne określenie udziału doktoranta w każdej z nich. Pozwala to recenzentowi ocenić rzeczywisty wkład i poziom zaangażowania Doktoranta w publikacje powstające w ramach pracy zespołowej. We wskazanym cyklu prac Doktorant jest pierwszym autorem trzech opublikowanych artykułów (publikacje 2-4) oraz złożonego manuskryptu (publikacja 5), a w jednej z prac – drugim autorem (publikacja 1). Zarówno treść oświadczeń wszystkich współautorów, jak i informacje zawarte w poszczególnych publikacjach jasno wskazują, że w pracach, w których Doktorant występuje jako pierwszy autor, odegrał on kluczową rolę na każdym etapie ich powstawania. Dotyczy to zarówno planowania badań – gdzie wraz z promotorem współtworzył ich koncepcję – jak i realizacji doświadczeń, interpretacji wyników oraz przygotowania manuskryptów. Jego znaczący wkład w powstanie tych prac nie budzi zatem wątpliwości.

Warto także podkreślić, że badania prowadzone przez Doktoranta były częścią projektu, którym kierował, finansowanego z subwencji IDUB dla Uniwersytetu Łódzkiego w ramach konkursu na Doktoranckie Granty Badawcze.

Publikacje przedstawione jako podstawa rozprawy doktorskiej są spójne tematycznie i skupiają się na analizie oddziaływania olejków eterycznych w kontekście możliwości wykorzystania ich jako bioherbicydy. Generalnie tematyka dotycząca olejków eterycznych jest obecna w wielu pracach naukowych, co z pozoru mogłoby dawać wrażenie braku przestrzeni na nowatorski charakter prowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej badań. Jednak złożoność chemiczna olejków eterycznych, wynikająca z obecności licznych związków należących do różnych klas chemicznych, stanowi jednocześnie podstawę ich szerokiego spektrum aktywności biologicznej, ale także istotne wyzwanie badawcze. Wieloskładnikowy charakter tych mieszanin, dzięki zjawisku synergii, umożliwia uzyskanie efektów silniejszych aniżeli działanie pojedynczych związków. Jednocześnie ta sama cecha znacząco utrudnia jednoznaczne przypisanie określonych efektów konkretnym komponentom olejków, ponieważ poszczególne związki mogą działać równolegle, wielokierunkowo bądź poprzez wzajemne oddziaływanie. Dodatkowym wyzwaniem jest naturalna zmienność składu chemicznego wynikająca z czynników środowiskowych, warunków uprawy czy metod ekstrakcji, co utrudnia standaryzację składu oraz powtarzalność uzyskiwanych wyników. Ponadto oddziaływanie olejków na organizmy docelowe ma charakter wielopoziomowy tzn. od zaburzeń integralności błon komórkowych, poprzez zakłócenia procesów metabolicznych, aż po zmiany w ekspresji genów. Z jednej strony jest to atut ponieważ czyni je obiecującymi środkami o wielokierunkowym mechanizmie działania, ale z drugiej strony utrudnia precyzyjne określenie dominującego mechanizmu fitotoksyczności. Z tych względów, podejmowanie wieloaspektowych badań obejmujących zarówno analizy chemiczne i biochemiczne, jak i testy biologiczne prowadzone na poziomie molekularnym i komórkowym, aby wiarygodnie ocenić skuteczność działania olejków eterycznych oraz ich rzeczywiste możliwości wykorzystania jako bioherbicydów, jest w pełni uzasadnione, a nawet można powiedzieć konieczne. Nowatorski charakter badań potwierdza zarówno odpowiednio skonstruowany układ eksperymentalny, jak i adekwatnie zastosowane metody badawcze.

Doktorant skupił się na charakterystyce oddziaływania olejku tatarakowego na korzenie zarodkowe wybranych przedstawicieli gatunków roślin uprawnych oraz sagetalnych. Mimo iż olejek tatarakowy był przedmiotem analiz pod kątem jego składu oraz właściwości leczniczych, jego działanie biologiczne pozostaje nadal słabiej poznane aniżeli w przypadku innych szeroko badanych olejków eterycznych. Szczególną kwestią jest specyficzny skład, w którym dużą reprezentację stanowią fenylopropanoidy, w tym  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -azaron. Związki te mogą wykazywać aktywność zarówno pro- jak i antyoksydacyjną w zależności od stężenia. Ten dualistyczny tryb działania jest intrygujący zarówno od strony czysto poznawczej, ale także od strony aplikacyjnej. Ograniczona liczba danych dotyczących wpływu tego olejku na poziomie fizjologicznym, cytologicznym i molekularnym stanowi dodatkowy argument przemawiający

za ważnością podjętych przez Doktoranta badań, również z tego względu, aby jego potencjalne zastosowanie jako bioherbicyd mogło wiązać się z wysokim poziomem bezpieczeństwa.

Celem jaki postawił przed sobą Doktorant było określenie potencjału fitotoksycznego olejku tatarakowego, ustalenie selektywności jego działania wobec wybranych gatunków roślin oraz analiza zmian indukowanych na poziomie struktur komórkowych, metabolizmu, aparatu genetycznego i sieci sygnalizacyjnych. Badania zostały podzielone na pięć etapów, z których każdy stanowi odrębną publikację składającą się na rozprawę. Zarówno cel nadrzędny odnoszący się do całej rozprawy, jak i szczegółowe cele poszczególnych etapów, zostały jasno sformułowane oraz uzupełnione o precyzyjnie zdefiniowane hipotezy, weryfikowane w każdej części projektu badawczego. Na uwagę zasługuje także koncepcja badań, która została starannie zaplanowana, a podział na kolejne etapy umożliwił kompleksową analizę odpowiedzi komórek na obecność wybranego stężenia olejku. Przemyślana strategia doboru gatunków testowych oraz sposobu standaryzacji materiału badawczego — opartego nie na ujednoczeniu stężenia, lecz na uzyskaniu porównywalnego efektu morfologicznego — pozwoliła uwzględnić selektywny charakter działania badanego olejku. Istotne jest również podkreślenie, iż na realizację tak wieloaspektowo postawionego celu badawczego pozwolił szeroki, ale jednocześnie dobrze dobrany zakres zastosowanych metod. Choć nie wszystkie techniki laboratoryjne zostały wykonane osobiście przez Doktoranta, to poprzez przygotowanie manuskryptów, interpretację danych i opis uzyskanych wyników wykazał on solidną wiedzę teoretyczną dotyczącą zarówno możliwości technicznych, jak i zasad właściwego wykorzystania poszczególnych metod w kontekście założonych celów badawczych.

Część doświadczalna pracy została przez Doktoranta przedstawiona w rozdziale pn. Omówienie wyników, gdzie opisane zostały rezultaty poszczególnych publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Cały cykl badań zawarty w poszczególnych pracach, tworzy dobrze zaplanowany i udokumentowany logiczny ciąg zmierzający do uzyskania odpowiedzi na kwestie zawarte w szczegółowych celach jakie postawił sobie Doktorant. Zastosowany model badawczy oraz układ eksperymentalny, integrujący analizy fizjologiczne, biochemiczne i metaboliczne, umożliwił Doktorantowi dostarczenie wiedzy dotyczącej mechanizmów tolerancji roślin, a także wyznaczenie znacznie szerszej niż dotychczas perspektywy ich odpowiedzi na związki bioaktywne. Pierwsza publikacja, w części odnoszącej się do rozprawy, dostarcza informacji odnośnie charakterystyki chemicznej komercyjnie dostępnego olejku eterycznego z kłączy tataraku (*Acorus calamus*) wraz z określeniem udziału procentowego izomerów azaronu – specyficznego składnika olejku. Publikacja nr 2 prezentuje z kolei standaryzację modelu eksperymentalnego, stosowanego również w kolejnych pracach, oraz szerokie spektrum analiz oceniających potencjał fitotoksyczny olejku wobec korzeni zarodkowych. Doktorant wykazał m.in., że zahamowaniu wzrostu korzeni towarzyszył spadek zarówno świeżej jak i suchej masy, obniżenie żywotności komórek oraz uszkodzenie błon komórkowych. Istotnych danych w zakresie odpowiedzi komórki dostarczyły również analizy poziomu reaktywnych form tlenu, wydajności systemu antyoksydacyjnego (zarówno

enzymatycznego jak i nieenzymatycznego), sprawności metabolizmu, czy zawartości makrocząsteczek jak: białka, monosacharydy czy kwasy tłuszczowe. Publikacja nr 3 koncentruje się na aspektach zwianych z aktywnością proliferacyjną komórek m.in. poprzez ocenę dynamiki replikacji DNA, czy integralności DNA w merystemach korzeniowych w odniesieniu do poziomu reaktywnych form tlenu. Kolejny etap prac przedstawiony w publikacji nr 4 to z kolei ocena oddziaływania olejku na przebieg mitozy m.in. na podstawie poziomu kinazy cyklinozależnej (Cdc2), wskaźnika mitotycznego, organizacji cytoszkieletu oraz epigenetycznych regulatorów mitozy w postaci fosforylacji treoniny 3 i seryny 10 histonu H3. Prezentowany cykl badań zamyka praca nr 5 dotycząca oceny sygnalizacji metabolicznej zależnej od cukru oraz kaskady kinaz MAPK i ich udziału w przeprogramowaniu epigenetycznych chromatyny, dostosowującym profil transkrypcyjny do warunków stresowych. Liczba uzyskanych i przedstawionych wyników, zaprezentowanych w poszczególnych publikacjach składających się na rozprawę doktorską, jest niezwykle imponująca. Dlatego też, choć ich wybór ma w pewnym stopniu charakter subiektywny, chciałabym zwrócić uwagę na wybrane rezultaty osiągnięte przez Doktoranta:

- wykazanie, że mechanizm działania olejku eterycznego z tataraku w przypadku komórek merystemów korzeni zarodkowych opiera się na indukcji stresu oksydacyjnego, przy czym wyraźnie zróżnicowane reakcje, zależne od gatunku i rodziny, wskazują na selektywny charakter jego działania
- wskazanie, że różnice w tolerancji stresu wywołanego narażeniem na olejek eteryczny z tataraku między analizowanymi przedstawicielami rodzin Fabaceae i Brassicaceae oraz wielokierunkowy mechanizm obejmujący regulację systemu redoks, destabilizację błon komórkowych oraz zmiany metaboliczne, mogą stanowić o potencjale tego olejku jako ukierunkowanego i bezpiecznego bioherbicydu o niskim ryzyku rozwoju odporności
- identyfikacja konsekwencji generowanego przez olejek eteryczny z tataraku stresu oksydacyjnego w odniesieniu do cyklu komórkowego. Proponowany schemat działania obejmuje następujące elementy: stres oksydacyjny – pęknięcia dwuniciowe DNA – aktywacja punktu kontrolnego G1/S – opóźnienie postępu cyklu komórkowego – zwiększona populacja komórek w fazie G1 i zmniejszona komórek aktywnie replikujących
- wykazanie, że genotoksyczne działanie olejku eterycznego z tataraku nie prowadzi do znaczącej fragmentacji DNA, przez co nie indukuje rozległej śmierci komórek
- wykazanie, że ekspozycja na olejek eteryczny z tataraku prowadzi do wielopoziomowych zaburzeń molekularnych obejmujących stres replikacyjny, wydłużenie fazy S, spadek poziomu kinazy cyklinozależnej Cdc2, zakłócenia w fosforylacji treoniny 3 i seryny 10 histonu H3, oraz nieprawidłowości w organizacji wrzeciona podziałowego i rozdziale chromatyd
- wykazanie, że obniżona aktywność mitotyczna komórek poddanych działaniu olejku eterycznego z tataraku związana jest z zaburzoną dynamiką mikrotubul i filamentów

aktywnych, skutkującą nadmierną stabilizacją struktur podziałowych i ograniczoną reorganizacją wrzeciona i fragmoplastu

- identyfikacja dodatkowych elementów odpowiedzi na stres wynikający z ekspozycji na olejek eteryczny z tataraku związanych z sygnalizacją metaboliczną zależną od heksokinazy HXK, poprzez ograniczenie jej aktywności enzymatycznej co w konsekwencji wyzwała przeprogramowanie aktywności transkrypcyjnej i wzmocnienie alternatywnych szlaków metabolicznych. Obserwowane w tych warunkach remodelowanie chromatyny ma na celu utrzymanie homeostazy komórki i możliwość jej przeżycia

Wyniki zaprezentowane w publikacjach składających się na niniejszą rozprawę doktorską mają bardzo wysoką wartość poznawczą i w sposób kompleksowy ukazują zmiany zachodzące w komórkach poddanych działaniu olejku eterycznego z tataraku.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgra Mateusza Wróblewskiego ma wysoką wartość naukową. Doktorant dobrze prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauki biologiczne, co stanowi przesłankę ustawodawcy stawianą kandydatom do stopnia doktora. Na ugruntowaną wiedzę doktoranta wskazuje wprowadzenie teoretyczne do niniejszej rozprawy, które stanowi klarowne i precyzyjne przedstawienie zagadnienia będącego jej przedmiotem. Rzetelnie opracowane części wprowadzające towarzyszą również poszczególnym pracom badawczym składającym się na całość rozprawy. Każde z tych wprowadzeń stanowi starannie przygotowaną prezentację podjętej problematyki, obejmującą omówienie znaczenia analizowanego zagadnienia, aktualnego stanu wiedzy w danym obszarze oraz identyfikację obszarów z niedostatkami wiedzy, uzasadniających potrzebę dalszych analiz naukowych. Poszczególne publikacje tworzą spójną całość, krok po kroku budując obraz odpowiedzi komórki merystemu korzenia zarodkowego na działanie olejku eterycznego z tataraku. Prace eksperymentalne zostały zaplanowane z dużą starannością i świadomością wymagań metodycznych. Uzyskane wyniki, poparte zastosowaniem nowoczesnych metod i zaawansowanych narzędzi badawczych, a także przedstawione w sposób przejrzysty i krytycznie omówione w kontekście aktualnej literatury, świadczą o wysokim poziomie merytorycznym prezentowanej pracy. Stanowią one istotny wkład w identyfikację elementów reakcji stresowych specyficznych dla poszczególnych gatunków lub rodzin roślin, pogłębiając tym samym nasze rozumienie mechanizmów tolerancji roślin na naturalne związki bioaktywne. Jednocześnie dostarczona wiedza jest kluczowa dla dalszych prac ukierunkowanych na opracowanie skutecznego, selektywnego i przyjaznego środowiska narzędzia stanowiącego alternatywę dla herbicydów chemicznych. W mojej opinii zaprezentowane dane stanowią znaczące osiągnięcie naukowe i oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, spełniając tym samym ustawowy warunek stawiany pracom doktorskim.

Rozprawa doktorska, z którą miałam przyjemność się zapoznać ma dużą wartość naukową. Jednak każda praca naukowa i podejście zastosowane do rozwiązania danego problemu biologicznego niejednokrotnie stanowi przedmiot dyskusji. Dlatego też podczas szczegółowej analizy poszczególnych prac nasunęło mi się kilka kwestii, względem których prosiłabym Doktoranta o odniesienie się podczas obrony:

1. Schemat eksperymentu zakłada 24-godziną inkubację w obecności badanego olejku. Po takim czasie wczesna reakcja na stres, w przypadku stresu oksydacyjnego, zostaje zastąpiona przez tzw. odpowiedź późną. Czy były podejmowane próby oceny poziomu reaktywnych form tlenu czy aktywacji systemu antyoksydacyjnego w innych interwałach czasowych? Biorąc pod uwagę znaczącą rolę  $H_2O_2$  jako cząsteczki sygnałowej taka analiza mogłaby dać wgląd w ocenę na ile obserwowany poziom jest wynikiem działania czynnika indukującego stres.
2. W przypadku niektórych analizowanych parametrów np. poziom askorbinianu (publikacja nr 2, Fig. 7 A, B), poziom glutationu (publikacja 2, Fig. 6 C, D), poziom cysteiny (publikacja 2, Fig. 9), indukcję wzrostu wartości danego parametru obserwowano w przypadku działania samego emulgatora. Czym można tłumaczyć ten efekt? Czy wartości uzyskane w przypadku traktowania korzeni zarodkowych olejkiem (SEO) pomniejszone o ewentualną indukcję przez sam emulgator, mogłyby mieć wpływ na wyciągane wnioski?
3. Ocena poziomu glutationu oraz cysteiny i  $\gamma$ -glutamylcysteiny jest jak najbardziej słusznym podejściem. Jednakże przy analizie parametrów stresu oksydacyjnego w kierunku oceny możliwości komórki w zakresie utrzymania równowagi redoks ważne jest określenie zarówno poziomu zredukowanej (GSH) jak i utlenionej formy glutationu (GSSG), co dodatkowo pozwala na ocenę stosunku GSH/GSSG będącego wskaźnikiem zdolności komórki do utrzymania homeostazy redoks. Czy brano pod uwagę tego typu oznaczenia i czy mogłyby one być pomocne dla interpretacji danych odnośnie aktywacji systemu antyoksydacyjnego w warunkach ekspozycji na badany olejek? Czy obserwowany poziom glutationu może być efektem jego zaangażowania również w procesy wykraczające poza kontrolę reaktywnych form tlenu?
4. Biorąc pod uwagę, że enzym reduktaza glutationu wymaga do swojej aktywności kofaktora jakim jest NADPH, czy brano pod uwagę możliwość oznaczenia jego poziomu, co mogłoby być pomocne w wyjaśnianiu zmian w aktywności tego enzymu w analizowanych warunkach.
5. W publikacji nr 2 Figura 4 przedstawia analizę żywotności komórek z użyciem błękitu Evansa. Czy brano pod uwagę możliwość przedstawienia tego wyniku również w formie obrazów mikroskopowych. Mogłoby to stanowić cenne uzupełnienie pomiaru absorbancji, dające możliwość oceny udziału komórek martwych w populacji i wychwycenia ewentualnych różnic między analizowanymi gatunkami.
6. W publikacji nr 3 Figura 2 przedstawia analizę poziomu anionorodnika ponadtlenkowego metodą z użyciem NBT. Wynik przedstawiony został w postaci danych obrazowych oraz ilościowo w postaci intensywności barwy wyrażonej w jednostkach umownych. Proszę

o doprecyzowanie, w jaki sposób oceniano ten parametr i czy uwzględniano różnice w wielkości komórek?

7. W publikacji nr 3 Figury nr 13 i 14 przedstawiają komórki TUNEL-pozytywne oraz elektroforezę DNA dla wykrycia fragmentacji DNA. W jaki sposób można tłumaczyć, wysokie wartości komórek TUNEL-pozytywnych, a zatem zawierających pęknięcia DNA i brak charakterystycznego wzoru przy rozdiale elektroforetycznym DNA.

Nie mam istotnych uwag co do strony edytorskiej prezentowanej rozprawy doktorskiej, która napisana jest poprawnym językiem z właściwie stosowaną terminologią naukową. Nieliczne literówki czy też nie do końca trafne określenie jak „Wizualizacja stresu oksydacyjnego... (str. 18), bowiem stres oksydacyjny jest wynikiem zaburzenia równowagi w sytuacji, kiedy poziom reaktywnych form tlenu przekracza potencjał antyoksydacyjny, zatem trafniejsze byłoby sformułowanie np. analiza parametrów stresu oksydacyjnego, nie wpływają na pozytywny odbiór pracy.

#### WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko. Stanowi ona istotny wkład w rozwój wiedzy na temat mechanizmu działania związków bioaktywnych. Praca zawiera oryginalne i wartościowe wyniki w zdecydowanej większości opublikowane w czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu i wysokich współczynnikach wpływu. Pan mgr Mateusz Wróblewski wykazał się dużą wiedzą z zakresu tematyki prowadzonych badań, umiejętnością zaplanowania i wykonania doświadczeń opartych na szerokim zakresie metod oraz umiejętnością formułowania wniosków, co stanowi podstawę rozwiązywania problemów naukowych.

Uważam zatem, że wymagania ustawowe dotyczące warunków stawianych rozprawom doktorskim zostały w tym przypadku spełnione. Dlatego też zwracam się do Komisji ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Pana mgra Mateusza Wróblewskiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Ze względu na wyróżniający się poziom merytoryczny, biorąc pod uwagę rangę rozwiązywanego problemu oraz zakres i jakość badań stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, wnioskuję o jej wyróżnienie. Rozprawa została przygotowana na podstawie artykułów naukowych opublikowanych w renomowanych, recenzowanych czasopismach międzynarodowych, co jednoznacznie potwierdza wartość i oryginalność przedstawionych wyników. Doktorant przedstawił bardzo obszerny, rzetelnie zgromadzony i starannie przeanalizowany materiał empiryczny, wykorzystując adekwatne dla problemu badawczego i zaawansowane metody badawcze. Praca cechuje się wysokim stopniem samodzielności, biorąc pod uwagę, że badania były realizowane w ramach projektu na Doktoranckie granty badawcze, którego Doktorant był kierownikiem.

*Renata Zadrag-Tęcza*

dr hab. Renata Zadrag-Tęcza, prof. UR