

Poznań, 10 sierpnia 2026

Prof. UAM dr hab. Jagna Chmielowska-Bąk
Zakład Ekofizjologii Roślin, Wydział Biologii,
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,
Ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań
e-mail: jagna.chmielowska@amu.edu.pl

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej

**„Tlenek azotu – cząsteczka modyfikująca ilość, jakość i funkcjonalność białek
osi zarodkowych nasion jabłoni (*Malus domestica* Borkh.) poddanych
starzeniu”**

Pana mgr. **Marcina Kamila Tymińskiego**

Pod kierunkiem Pani Promotor **dr hab. Urszuli Krasuskiej**

oraz Pani Promotor Pomocniczej **dr Katarzyny Ciąćkiej**

Ocena Formalna

Rozprawa doktorska Pana mgr Marcina Kamila Tymińskiego składa się ze 168 stron, a jej zasadniczą część stanowią cztery powiązane ze sobą tematycznie publikacje wraz z opisem obejmującym wstęp teoretycznych, cel pracy, opis materiału doświadczalnego i wykorzystane metody badawcze, opis najważniejszych wyników z elementami dyskusji i podsumowanie. Rozprawa doktorska zawiera również streszczenie w języku polskim i angielskim, opis dorobku naukowego Doktoranta, oświadczenia współautorów publikacji oraz spisy treści, rysunków, tabel, skrótów stosowanych w pracy i literatury. Pod względem formalnym rozprawa doktorska spełnia więc wszystkie wymogi opisane w **Art. 187. szkol. wyższe i nauk oraz uchwały nr 89-2022/2023 Senatu SGGW** z dnia 26 czerwca 2023 roku.

Ocena Merytoryczna

Rozprawa doktorska bazuje na czterech artykułach naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach o międzynarodowym zasięgu:

- 1) **Publikacja 1: Tyminski Marcin**, Ciacka Katarzyna, Staszek Pawel, Gniazdowska Agnieszka, Krasuska Urszula. 2021. Toxicity of *meta-Tyrosine*. *Plants* 10: 2800. <https://doi.org/10.3390/plants10122800>
- 2) **Publikacja 2: Ciacka Katarzyna, Tyminski Marcin**, Wal Agnieszka, Gniazdowska Agnieszka, Krasuska Urszula. 2022. Nitric oxide-an antidote to seed aging modifies *meta*-tyrosine content and expression of aging-linked genes in apple embryos. *Frontiers in Plant Science* 13: 929245. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.929245>
- 3) **Publikacja 3: Tyminski Marcin**, Ciacka Katarzyna, Krasuska Urszula. 2024. Reactive nitrogen species act as the enhancers of glutathione pool in embryonic axes of apple seeds subjected to accelerated ageing. *Planta* 260: 51. <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04472-5>
- 4) **Publikacja 4: Tyminski Marcin**, Staszek Pawel, Ciacka Katarzyna, Gniazdowska Agnieszka, Krasuska Urszula. 2026. NO treatment of embryos isolated from artificially aged apple (*Malus domestica* Borkh.) seeds modifies the pattern of nitrated and carbonylated proteins. *Plant Science* 362: 112828. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2025.112828>

Wszystkie czasopisma, w których opublikowano prace mają wysoki współczynnik oddziaływania (Impact Factor, IF) i są dobrze rozpoznawalne w obszarze biologii roślin. Łączny współczynnik oddziaływania publikacji wynosi IF=18,158, a liczba punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego - 370. Publikacje są ściśle powiązane tematycznie, a udział Doktoranta jako współautora wymienionych artykułów jest znaczący.

We wstępie teoretycznym przedstawiono znaczenie badań nad starzeniem nasion, podstawowe pojęcia związane z biologią nasion, klasyfikację fizjologiczną nasion, charakterystykę systemów antyoksydacyjnych oraz reaktywnych form tlenu i azotu z uwzględnieniem ich roli w procesach starzenia nasion. Rozdział jest dobrze powiązanych z tematyką badań, napisany w zwięzły i przejrzysty sposób, urozmaicony jedną tabelą i siedmioma czytelnymi rycinami. W kolejnym rozdziale przedstawiono cel pracy i odniesiono go do kolejnych etapów badań. W rozdziale tym zaproponowano także pytania i hipotezy badawcze. Trzeci rozdział dotyczy materiału doświadczalnego i zastosowanych metod badawczych. Przedstawienie na rycinach materiału badawczego i układu doświadczalnego znacznie ułatwia zrozumienie przebiegu prac badawczych. Metody badawcze zostały opisane w zwięzły, ale zrozumiały sposób, z odniesieniem do bardziej obszernych opisów zamieszczonych w konkretnych publikacjach. Na uwagę zasługuje fakt, że badania prowadzono na osiach zarodkowych, których izolacja wymaga znacznego nakładu pracy, czasu oraz dużej precyzji. Warto także podkreślić, że Doktorant w trakcie pracy badawczej poznał szereg różnych metod włączając metody chromatograficzne, spektrofotometryczne, spektrofluorescencyjne, elektroforetyczne oraz pomiary ekspresji genów przy pomocy PCR w czasie rzeczywistym i identyfikację prób przy zastosowaniu techniki MS. W rozdziale tym zabrakło mi krótkiego odniesienia do ilości powtórzeń biologicznych i zastosowanych testów statystycznych. Informacje te jednak można odnaleźć w załączonych publikacjach.

Zasadniczą część rozprawy doktorskiej stanowi opis wyników z elementami dyskusji wraz z załączonymi publikacjami. **Publikacja 1** stanowi przegląd literatury dotyczącej *meta*-Tyrozyny (*m*-Tyr). W publikacji przedstawiono metabolizm tyrozyny, charakterystykę jej izomerów oraz biologiczne znaczenie formowania *m*-Tyr, włączając mechanizm jej toksyczności. W artykule zawarto szereg ciekawych spostrzeżeń np. potencjalne wykorzystanie tego aminokwasu w oddziaływaniach allelopatycznych przez rośliny z rodzaju *Festuca*, czy znaczące różnice w poziomie *m*-Tyr w organizmach roślinnych i zwierzęcych. Opisane dane literaturowe pokazują również, że egzogenne podanie fenyloalaniny (Phe) może łagodzić toksyczne działanie *m*-Tyr.

W badaniach opisanych w **publikacji 2** Doktorant był zaangażowany w pomiary poziomu Tyr, *m*-Tyr i Phe w osiach zarodkowych starzejących nasion jabłoni. Wyniki pokazują, że przedłużający się proces postarzania nasion (21-dniowy) jest powiązany ze wzrostem zawartości *m*-Tyr. Z kolei egzogenne traktowanie NO skutkowało obniżeniem stosunku *m*-Tyr/Tyr oraz wzrostem poziomu Phe. Uzyskane wyniki wskazują na to, że ochronne działanie NO w starzejących się nasionach odnotowane we wcześniejszych badaniach zespołu oraz potwierdzone w publikacji 3 i 4, może wynikać z modulującego wpływu tej cząsteczki na metabolizm wolnych aminokwasów.

W **publikacji 3** skupiono się na metabolizmie glutationu, który stanowi ważny element nieenzymatycznego układu antyoksydacyjnego. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w poziomie całkowitego glutationu ani jego formy zredukowanej (GSH) lub utlenionej (GSSG) podczas procesu postarzania nasion. Jednak, egzogenne traktowanie NO powodowało wzrost poziomu GSH, GSSG i w rezultacie całkowitej puli glutationu. Efekt ten był widoczny w osiach zarodkowych izolowanych z nasion postarzanych przez 7 i 21 dni. Proces postarzania był także powiązany ze spadkiem aktywności enzymów zaangażowanych w metabolizm glutationu – reduktazy glutationowej (GR) oraz peroksydazy glutationowej (GPX). Egzogenne podanie NO prowadziło do stymulacji aktywności wymienionych enzymów, w przypadku GR efekt stymulujący był obserwowany tylko w osiach izolowanych z nasion postarzanych przez 7 i 14 dni. Traktowanie NO modulowało ekspresję genów kodujących wymienione enzymy, przy czym po 14 i 21 dniach postarzania obserwowano wzrost ekspresji większości badanych genów. Uzyskane wyniki wskazują, że NO w znaczący sposób moduluje metabolizm glutationu w postarzanych nasionach.

Jak wskazuje Doktorant procesy starzenia się nasion są ściśle powiązane z metabolizmem reaktywnych form tlenu i azotu, które mogą modyfikować różne biocząsteczki, w tym białka. W **publikacji 4** zawarto wyniki profilu karbonylacji i nitracji białek w kontrolnych osiach zarodkowych nasion jabłoni oraz w osiach zarodkowych traktowanych egzogennym NO. W ramach badań zidentyfikowano szereg karbonylowanych i nitrowanych białek. W przypadku karbonylacji wykryto między innymi białka szoku cieplnego (HSP), białka LEA (ang. *late-embryogenesis abundant proteins*) i pruninę 1. Traktowanie NO modulowało zarówno profil jak i intensywność karbonylacji białek. Dla przykładu białko szoku cieplnego wykryto tylko w osiach poddanych działaniu egzogennej NO. W przypadku nitracji wykryto głównie szereg białek związanych z metabolizmem. Co ciekawe zarówno w puli karbonylowanych jak i nitrowanych białek znalazła się prunina 1. Egzogenne traktowanie NO wpływało na poziom nitracji białek, ale nie zmieniało jej profilu. Potranslacyjne modyfikacje białek mogą być sygnałem do ich degradacji. Proces postarzania był związany ze zwiększoną aktywnością proteolityczną obserwowaną po 21 dniach przy pH 8.8 oraz zwiększoną

degradacją białek. Egzogenne traktowanie NO intensyfikowało proces degradacji białek (po 14 dniach postarzania) oraz stymulowało aktywność proteosomu 20S. W mojej opinii wyniki zawarte w publikacji stanowią istotny wkład w wiedzę dotyczącą roli potranslacyjnych modyfikacji białek w procesach rozwojowych roślin.

W rozdziale „podsumowanie” doktorant w zwięzły sposób przedstawił główne wnioski z badań. Wnioski są dobrze poparte uzyskanymi wynikami. W rozdziale tym nakreślono także nadal otwarte pytanie badawcze dotyczące losu i roli potranslacyjnie zmodyfikowanych białek. Wnioski zaprezentowano także na czytelnym schemacie. Rozprawa bazuje na 151 źródłach literaturowych, które stanowią artykuły opublikowane w dobrze rozpoznawalnych, recenzowanych, anglojęzycznych czasopismach o międzynarodowym zasięgu. Większość cytowanych artykułów została opublikowana w okresie ostatnich 10 lat. Lista cytowanych artykułów jest starannie sformatowana. Liczba cytowanych źródeł wskazuje na bardzo dobre zaznajomienie się Doktoranta z tematyką starzenia nasion i szeroką wiedzę teoretyczną.

Podsumowując, rozprawa doktorska mgr. Marcina Kamila Tymieńskiego dotyczy istotnego dla biologii roślin tematu niwelowania niekorzystnych skutków starzenia nasion. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład pokazując, że traktowanie osi zarodkowych egzogenным NO moduluje metabolizm glutationu, stosunek mTyr/Tyr, profil i/lub intensywność karbonylacji i nitracji białek oraz procesy degradacji białek w postarzanych nasionach jabłoni. Efekty działania NO są zależne od etapu procesu starzenia. Badania prowadzono na osiach zarodkowych, które pod względem izolacji stanowią trudny materiał. W pracy badawczej zastosowano szereg różnych metod. Rozprawa doktorska jest napisana w przejrzysty i staranny sposób. Sposób napisania pracy oraz liczba materiałów źródłowych wskazuje na szeroką wiedzę Doktoranta.

Na uwagę zasługuje obszerny dorobek naukowy Doktoranta obejmujący między innymi kierowanie projektem naukowym 2023/49/N/NZ3/02235 p.t.: „Zaburzenia oddziaływania fitoglobiny-reduktaza azotanowa w osiach zarodkowych izolowanych z nasion jabłoni (*Malus domestica* Borkh.) poddanych starzeniu” finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu Preludium oraz współautorstwo w 13 artykułach opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych. Ponadto Doktorant był współautorem 16 doniesień konferencyjnych, przy czym trzy prezentowane wystąpienia/plakaty uzyskały nagrody. O aktywności naukowej świadczy także zaangażowanie w organizację konferencji naukowej „The Intercollegiate Biotechnology Symposium „Symbioza” oraz uczestnictwo w licznych szkoleniach i kursach.

Pytania i komentarze

W trakcie czytania rozprawy doktorskiej nasunęło się kilka pytań:

- 1) Powszechnie stosowanymi markerami stresu oksydacyjnego są produkty peroksydacji lipidów. Czy w opinii Doktoranta pomiary poziomu *meta*-Tyrozyny mogłyby zastąpić te markery przy szacowaniu intensywności stresu oksydacyjnego?
- 2) W badaniach zastosowano jako źródło NO zakwaszany roztwór azotynu sodu. Czy Doktorant mógłby zaproponować inne cząsteczki uwalniające NO? Jakie byłyby zalety i wady ich zastosowania?
- 3) Badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej wykazały, że w postarzanych nasionach dochodzi do nitracji białek. Czy są dostępne dane literaturowe dotyczące nitracji kwasów nukleinowych? Jaki wpływ NO na cząsteczki RNA i DNA można by przewidywać w zastosowanym układzie badawczym?
- 4) Bardzo ciekawym wynikiem było odkrycie białek, które ulegają zarówno karbonylacji jak i nitracji. Czy Doktorant mógłby zaproponować jakieś hipotezy dotyczące tego procesu? Jakie czynniki mogą być odpowiedzialne za większą podatność białek na wymienione procesy? Jaki może być biologiczny efekt tego zjawiska?

Drobne komentarze edytorskie:

- dla niektórych terminów znane są też skróty polskie np. reaktywne formy tlenu (RFT), reaktywne formy azotu (RFA)
- w spisie skrótów niektóre zawierają rozwinięty termin w języku angielskim, warto dodać takie rozwinięcie przy wszystkich skrótach
- unikałabym rozpoczęcia zdania od wyrazu „oraz” (str.44)

Wniosek Końcowy

Podsumowując, przedłożona rozprawa doktorska Pana mgr Marcina Kamila Tymińskiego spełnia wszystkie wymagania opisane w Art. 187. szkol. wyższe i nauk oraz uchwały nr 89-2022/2023 Senatu SGGW z dnia 26 czerwca 2023 roku:

1. Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie albo dyscyplinach oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.
2. Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.
3. Rozprawę doktorską stanowi zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych.
4. Do rozprawy doktorskiej dołączone jest streszczenie w języku angielskim oraz oświadczenia współautorów artykułów naukowych według wytycznych opisanych w § 10 uchwały nr 89-2022/2023 Senatu SGGW z dnia 26 czerwca 2023 roku.

Na tej podstawie wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o przyjęcie przedstawionej rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr. Marcina Kamila Tymińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę znaczenie wyników dla biologii roślin, rangę czasopism w których zostały opublikowane, wszechstronne podejście do tematu oraz wysoką aktywność naukową Doktoranta wnioskuję również o **wyróżnienie** przedłożonej rozprawy doktorskiej.



Prof. UAM dr hab. Jagna Chmielowska-Bąk
Zakład Ekofizjologii Roślin, Wydział Biologii,
Uniwersytet im Adama Mickiewicza w Poznaniu

UNIwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Wydział Biologii
Zakład Ekofizjologii Roślin
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań
tel. 61 829 58 08

KANCELARIA GŁÓWNA SGGW
2025 -08-18
WPŁYNEŁO DNIA -4-

RPW/26751/2026 N
Data: 2026-08-18

R

(00)259007734909628144



(00)259007734909628144

2026

Poczta Polska
Oplata pobrana
11.00 zł gr

POZNAN 60
10082025
DI

PRIORYTET

✓ Biuro Obsługi Nauki
Szkoła Główna Gospodstwa Wiejskiego
w Warszawie
ul. Nowoursynowska 166
02-787 Warszawa

JAGNA CHMIELOWKA - BAK
ZAKŁAD EKOFIZJOLOGII ROŚLIN
WYDZIAŁ BIOLOGII UAM
UL. UNIWERSYTETU POZNAŃSKIEGO 6
61-614 POZNAŃ