

prof. dr hab. Grażyna Podolska
IUNG-PIB w Puławach
Z-d Uprawy Roślin Zbożowych
ul Czartoryskich 8
24-100 Puławy

Puławy, 01.08.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Włodarczyk pt.: „Wzrost, potencjał antyoksydacyjny i alergiczny pomidorów (*Solanum lycopersicum* L.) poddanych działaniu nano-ZnO podczas nawożenia”

1. Ocena problematyki badawczej

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Włodarczyk pt.: „Wzrost, potencjał antyoksydacyjny i alergiczny pomidorów (*Solanum lycopersicum* L.) poddanych działaniu nano-ZnO podczas nawożenia” została wykonana na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Ziemi, Politechniki Łódzkiej pod kierunkiem dr hab. inż. Beaty Smolińskiej, prof. Politechniki Łódzkiej oraz promotora pomocniczego dr inż. Iwony Majak.

Nanotechnologia, dziedzina nauki, której początki sięgają lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku, w ostatnich latach rozwija się bardzo dynamicznie. Duże zainteresowanie tą gałęzią nauki wynika z unikalnych właściwości nanomateriałów, nabytych dzięki „nano-rozmiarowi”. Redukcja rozmiaru materiałów do poziomu nanometrycznego (1-100 nm) skutkuje zwiększeniem ich powierzchni właściwej, co znacząco wpływa na zmianę właściwości mechanicznych, elektrycznych, magnetycznych i chemicznych w porównaniu do ich większych odpowiedników. Produkty z udziałem nanomateriałów (wykorzystujących nanocząstki metali i tlenków metali) znalazły zastosowanie niemal we wszystkich dziedzinach życia: elektronice, elektrotechnice, kosmetyce, farmacji, medycynie, rolnictwie, przemyśle spożywczym oraz chemicznym. Nanocząsteczki działające na poziomie komórkowym roślin wpływają na ich podstawowe procesy fizjologiczne. W ich działaniu upatruje się możliwości zwiększenia odporności roślin na stresy biotyczne i abiotyczne. Jednym z najczęściej stosowanych obecnie nanomateriałów są nanocząstki tlenku cynku (ZnO-NPs) używane ze względu na ich specyficzne właściwości fizyko-chemiczne, fotokatalityczne oraz

przeciwdrobnoustrojowe. Skutki zastosowania nanocząsteczek w rolnictwie nie są jednak w pełni zbadane, a co za tym idzie zarówno wybór jak i zakres problematyki poruszanej w pracy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Włodarczyk, są ważne z poznawczego punktu widzenia.

2. Formalna analiza rozprawy

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Włodarczyk pt.: „Wzrost, potencjał antyoksydacyjny i alergiczny pomidorów (*Solanum lycopersicum* L.) poddanych działaniu nano-ZN) podczas nawożenia” obejmuje 205 stron maszynopisu w tym 15 tabel i 61 figur. Autorka powołała się na 272 anglojęzyczne pozycje literatury, z czego dominujący udział stanowią oryginalne publikacje naukowe. Autorka ponadto korzystała z podręczników i dostępu do internetowych baz danych. Dobór piśmiennictwa jest bogaty, trafny, związany bezpośrednio z tematyką recenzowanej pracy. Wybór źródeł literaturowych uznaję za wiarygodny dowód przygotowania Autorki do podjęcia prac badawczych.

Układ pracy jest typowy dla tego typu opracowań i składa się z 7 wyodrębnionych rozdziałów, które obejmują (poza spisem treści) streszczenia w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, pochodzenie badań, materiały, metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie. Do pracy dołączono ponadto bibliografię oraz spis używanych skrótów. W poszczególnych rozdziałach Autorka wyodrębniła liczne podrozdziały co czyni pracę bardziej przejrzystą i łatwą w czytaniu.

Układ pracy został opracowany w sposób logiczny, a praca odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim. Rozprawa jest zredagowana starannie, w sposób zrozumiały i poprawny pod względem stylistycznym.

3. Merytoryczna analiza pracy

Tytuł rozprawy jest dobrze sformułowany i w pełni nawiązuje do treści w niej zawartych. Rozprawę rozpoczyna wprowadzenie, które Autorka zawarła na 43 stronach maszynopisu. Doktorantka przedstawiła kwestie związane z nawożeniem i jego wpływem na środowisko, ryzykiem upraw GMO, oraz znaczenie nanotechnologii dla sektora rolniczego. Opisuje znaczenie pomidora, jego skład chemiczny oraz wpływ cynku na poziom plonowania i skład chemiczny oraz wpływ nanocząstek ZnO na kiełkowanie, parametry wzrostu oraz skład chemiczny. Ustosunkowuje się do enzymatycznego i nieenzymatycznego systemu antyoksydacyjnego, zaznajamia czytelnika z substancjami prozdrowotnymi i alergenami pomidora opisując wpływ warunków uprawy na ich potencjał. Ta część rozprawy napisana jest przejrzysto i logicznie i prowadzi w jasny sposób do przedstawienia hipotezy badawczej i celu pracy. Nieścisłości znalazłam w podrozdziale 1.2 . Autorka pisze, „ genetics, which allows to

improve” . „genetyka pozwala na doskonalenie” Chciałam zwrócić uwagę, że genetyka sama w sobie jest dyscypliną zajmującą się problematyką dziedziczenia oraz zmienności organizmów opartej na genach, trafniej było użyć sformułowania inżynieria genetyczna bo to ona pozwala na ich doskonalenie. Nieścisłością jest ponadto użycie określenia „ using wild type plants” –powinno być odmiany uprawne.

W rozdziale dotyczącym pochodzenia badań Autorka przedstawiła hipotezę, cel badań oraz metody i techniki badawcze. Jako cel Doktorantka przyjęła określenie wpływu nawożenia organicznego oraz nanocząstek ZnO na wzrost, potencjał antyoksydacyjny i alergenny pomidora. Oprócz wymienionych czynników w badaniach uwzględniono również odmiany. Uważam zatem, że i ten aspekt powinien być uwzględniony w celu pracy. Przedstawienie natomiast w tym rozdziale metodyki uważam za zbędne.

W rozdziale „Materiały” Doktorantka scharakteryzowała: użyte w pracy materiały, wykorzystaną do badań aparaturę, odczynniki, nanocząstki ZnO NPs, odmiany oraz przedstawiła schemat badań.

Badania obejmowały kilka etapów. Pierwszy miał na celu przeanalizować wpływ stężeń nanocząstek ZnO <100 i < 50 nm na wybrane parametry kiełkowania nasion oraz wigor siewek pomidora. W wyniku analizy otrzymanych danych Doktorantka do dalszych badań zastosowała roztwór nanoZnO o wielkości < 50 nm. Badania te Doktorantka prowadziła na szalkach Petriego metodą kompletnej randomizacji w trzech powtórzeniach, na jednej szalce wysiewając po 15 nasion. Zastanawia mnie tak mała liczba nasion, czy zatem oznaczenie parametrów kiełkowania oparto na przyjętej metodyce lub normie?

Drugi etap badań obejmował dwa doświadczenia wazonowe prowadzone w trzech powtórzeniach. Czynnikiem doświadczenia było stężenia nano-ZnO (50, 150, 250 mg/L), odmiany pomidora koktajlowego: Maskotka, Granit, Malinowy Bossman oraz zastosowanie nawozu Biohumus Super Forte. W pierwszym doświadczeniu roztwory nanocząsteczek były aplikowane bezpośrednio do gleby, w drugim zastosowano aplikację do gleby i nalistnie. Rozdział ten napisany jest prawidłowo, jednak pewne kwestie wymagają wyjaśnienia: jakie były kryteria wyboru odmian do badań? dlaczego w pierwszym doświadczeniu zastosowano jeden, a w drugim dwa obiekty kontrolne?, jaką metodą założono doświadczenie i ilu czynnikowe było doświadczenie?, dlaczego doświadczenie z dolistnym zastosowaniem nanocząstek prowadzono jedynie na odmianie Maskotka?

W przypadku recenzowanej pracy metodyka obejmowała wykonanie analiz właściwości fizycznych oraz zawartości N, Zn, Fe, K i Mg, węgla organicznego, siły, energii kiełkowania oraz wigoru siewek. Analizę pomiarów biometrycznych roślin, aktywność

antyoksydantów takich jak polifenole, flawonoidy, karotenoidy, katalazy (CAT), peroksydazy (POX), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), oraz melonodialdehydu (MDA) w częściach zielonych roślin. W owocach pomidora oznaczono: ogólną zawartość antyoksydantów, (DPPH), stężenie likopenu i beta-karotenu, oraz wykonano ilościowe oznaczenia wybranych alergenów (profilin oraz bet v1). W pracy zwraca uwagę różnorodność zastosowanych metod analitycznych i ich umiejętny dobór do poszczególnych oznaczeń. W metodyce dotyczącej syntezy cDNA i analizy qRT-PCR analysis 4.5.4 Doktorantka użyła tylko 1 genu referencyjnego dlaczego? Zostały wykonane 3 biologiczne powtórzenia, ale czy też zostały wykonane techniczne powtórzenia? Rozdział ten, wskazuje, że Doktorantka dobrze opanowała różne techniki analityczne zarówno o charakterze chemicznym, enzymatycznym i fizykochemicznym.

Uzyskane z doświadczeń wyniki Autorka poddała analizie statystycznej ANOVA, wyliczając współczynniki zmienności między średnimi oraz zależności korelacyjne. Oceniając założenia badawcze i opis metod jakie Doktorantka stosowała dla wyjaśnienia przyjętego celu badań stwierdzam, że są one prawidłowe.

Rozdział „Wyniki”, został przedstawiony na 59 stronach maszynopisu, dane zostały zawarte w 8 tabelach i 48 figurach. W rozdziale tym Doktorantka wyróżniła sześć części: charakterystykę gleby, analizę kiełkowania nasion, analizę biometryczną roślin, nieenzymatyczny system obrony antyoksydacyjnej, enzymatyczny system obrony antyoksydacyjnej, analizę wybranych mikroelementów w komórkach roślin, analizę owoców pomidora, opracowanie Rt-qPCR do wykrywania alergenów. Wyniki zostały przedstawione w sposób uporządkowany i przejrzysty zgodnie z zakresem badań scharakteryzowanym w poprzednim rozdziale. Odznaczają się one dużą wartością poznawczą. Opisane zależności są udokumentowane statystycznie. Kompleksowość badań i przedstawionych wyników jest niewątpliwie atutem pracy. Jednak nasuwają mi się pewne uwagi i wątpliwości. Opis zawartości P₂O₅ jest nieściśły Autorka w tekście wykazuje te zależności, ale wg analizy statystycznej nie było istotnych różnic pomiędzy przedstawionymi grupami jednorodnymi.

Interpretacja wyników przedstawionych na rysunkach np. 21, 23, 24, 26, 27, 30 i pozostałych wydaje się być niezgodna z wyliczonymi grupami jednorodnymi, proszę o bliższe wyjaśnienie jednego z tych rysunków. Analizując wyniki wydaje się, że Doktorantka porównywała średnie dla 12 kombinacji, takie porównanie jest prawidłowe ale nie można określić reakcji odmian. Moim zdaniem trafniej było utworzyć grupy jednorodne dla 3 stężeń nanocząstek plus obiekt kontrolny. W wielu wypadkach Autorka opisuje wyniki bazując na wyliczeniu różnic

procentowych, taka interpretacja jest prawidłowa, wskazuje jedynie na bezwzględną różnicę, która nie musi być istotna.

Dyskusja wyników badań przedstawiona na 36 stronach, została przeprowadzona w sposób dojrzały i rzeczowy. Doktorantka wyodrębniła tutaj podrozdziały odnoszące się do poszczególnych wyników badań. Taki układ porządkuje zawartości i ułatwia odbiór treści. W rozdziale tym Doktorantka porównała rezultaty swoich badań z obserwacjami innych autorów wykazując na rozbieżności i podobieństwa uzyskiwanych wyników.

Zakończeniem części merytorycznej pracy doktorskiej jest podsumowanie, będące odpowiedzią na sformułowane hipotezy badawcze i cel badań. W zasadzie jest ono poprawne, jednak według mojej oceny wymaga uzupełnień.

Doktorantka stwierdza, że w przypadku odmiany Maskotka użycie nanocząstek w każdym stężeniu miało korzystny wpływ na biometryczne parametry roślin, natomiast odmienne zależności wystąpiły u odmiany Granit. Jednak nie potwierdzają tego dane zawarte na rysunku 21, 26, 28. Podsumowanie dotyczące tego zagadnienia należy uzupełnić o reakcję odmiany Malinowy Bossman.

W podsumowaniu dotyczącym wpływu NPs na parametry nieenzymatycznego systemu obrony, stwierdzenie, że w przypadku odmiany Maskotka zastosowanie nanocząstek nie miało silnego wpływu jest mało precyzyjne.

Sformułowanie, że zastosowanie NPs zmniejszyło zawartość chlorofilu i karotenu w liściach jest nie do końca prawdziwe. Istotne zmniejszenie chlorofilu a w przypadku aplikacji do gleby wystąpiło jedynie przy zastosowaniu nanocząstek w ilości 50 mg/L, natomiast w przypadku aplikacji dolistnej nie stwierdzono istotnej zależności.

Stwierdzenie, że zastosowanie NPs obniżało plon owoców pomidora w porównaniu do kontroli należy uzupełnić o nazwę odmiany.

W podsumowaniu dotyczącym wpływu Nps na zawartość B-karotenu i likopenu Doktorantka stwierdza istnienie zależności dobrze byłoby opisać te zależności.

W recenzowanej pracy znajdują się pewne błędy redakcyjne, niektóre z nich przedstawiam poniżej:


- w tekście dotyczącym zawartości węgla organicznego Autorka mylnie powołała się na Figurę 20, powinno być tabela 10. - str 67
- Tabela 10 nie ma nagłówka. - str 96
- Figura 20 błędnie podano stężenie powinno być 250 mg/L, a jest 250 nm/L. - str 95
- Błędnie powołano się na figurę 50 - str 116

Powyższe uwagi nie podważają merytorycznej wartości pracy, ale wskazują Autorowi jedynie dalsze możliwości interpretacyjne uzyskanych wyników.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że Doktorantka wykazała się znajomością literatury przedmiotu, wiedzą metodyczną i umiejętnością interpretacji wyników. Doświadczenie zostało prawidłowo zaplanowane i konsekwentnie przez Autorkę zrealizowane, a uzyskane wyniki pozwoliły na osiągnięcie założonego celu pracy. Pragnę podkreślić, że wykazane w recenzji uchybienia pracy i niedociągnięcia nie obniżają wysokiej wartości naukowej rozprawy doktorskiej. Mają charakter dyskusyjny, a w wielu miejscach redakcyjny. Niewątpliwie rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Włodarczyk wnosi trwały ślad w wiedzę z zakresu dziedziny nauki rolnicze, w dyscyplinie technologia żywności i żywienia.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Włodarczyk pt.: „Wzrost, potencjał antyoksydacyjny i alergiczny pomidorów (*Solanum lycopersicum* L.) poddanych działaniu nano-ZnO podczas nawożenia” spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r-Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020r.poz.85 z późn. Zm.). Składam wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwa i Ogrodnictwa o jej przyjęcie i dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Włodarczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


prof. dr hab. Grażyna Podolska