

KATEDRA KSZTAŁTOWANIA ŚRODOWISKA  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin

Tel. (091) 4496376

E-mail [janusz.blaszkowski@zut.edu.pl](mailto:janusz.blaszkowski@zut.edu.pl)

Fax (091) 4425690

---

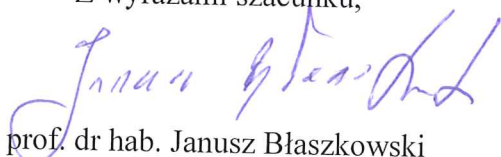
Szczecin, 28.08.2024

**Rada Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne  
Politechniki Wrocławskiej  
wybrzeże Wyspiańskiego 27  
50-370 Wrocław**

Szanowny Panie dr. hab. inż. Robercie Góra, prof. uczelni  
Przewodniczący Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne,

przesyłam recenzję rozprawy doktorskiej pt. „**Ocena skuteczności atmosferycznej plazmy niskotemperaturowej przeciwko fitopatogennym grzybom**”, której autorką jest Pani mgr inż. Daria Katarzyna Nowinski z Katedry Chemii Organicznej i Medycznej, Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Ponadto załączam inne wymagane dokumenty: zawiadomienie, upoważnienie i oświadczenie.

Z wyrazami szacunku,



prof. dr hab. Janusz Błaszowski

prof. dr hab. Janusz Błaszowski  
Pracownia Ochrony Roślin  
Zachodniopomorski Uniwersytet  
Technologiczny w Szczecinie

Szczecin, 28 sierpnia 2024

**Recenzja rozprawy doktorskiej zatytułowanej**  
**”Ocena skuteczności atmosferycznej plazmy niskotemperaturowej**  
**przeciwko fitopatogennym grzybom”**

przygotowanej przez Panią mgr inż. Darię Katarzynę Nowinski  
z Katedry Chemii Organicznej i Medycznej, Wydziału Chemicznego Politechniki  
Wrocławskiej

Rozprawa doktorska zatytułowana „**Ocena skuteczności atmosferycznej plazmy niskotemperaturowej przeciwko fitopatogennym grzybom**” została przygotowana pod kierunkiem Pani dr. hab. Ireny Maliszewskiej, prof. PWr.

Uzasadnienie podjęcia i cele badań, sposób ich przeprowadzenia, otrzymane wyniki oraz ich omówienie wraz z wnioskami, wykorzystaną literaturą i materiałami uzupełniającymi zostały przedstawione w 217-stronicowym opracowaniu przygotowanym w języku polskim. Po streszczeniach w językach polskim i angielskim oraz wykazie skrótów, główna część rozprawy została podzielona na cztery rozdziały, z których każdy jeszcze podzielono na podrozdziały. Struktura pracy jest przejrzysta i pozwala na łatwe zapoznanie się z jej treścią. Użyty język jest na wysokim poziomie.

W rozdziale “Wprowadzenie” Autorka wszechstronnie i ze znanstwem omówiła (i) historię problemów dotyczących zapewnienia bezpieczeństwa żywnościowego w świecie, główne przyczyny braku wystarczającego zaopatrzenia ludzkości w żywność i działania mające na celu zredukowanie tego niedostatku, (ii) wielkości i rodzaje strat w całkowitej ilości wyprodukowanej żywności i etapy w łańcuchu dostaw, w których te straty zachodzą, (iii) przeważającą rolę grzybów fitopatogennych w powodowaniu niedostatku żywnościowego wynikającego z redukcji plonowania roślin i wartości zbiorów wskutek produkowanych mykotoksyn, (iv) grupy troficzne patogenów i własności decydujące o ich wirulencji, (v) zakres specjalizacji, występowanie, rozprzestrzenianie, wywoływane objawy chorobowe i skutki chorób powodowanych przez grzyby z rodzajów *Fusarium*, *Botrytis* oraz *Alternaria*, które są sprawcami największych strat w produkcji rolniczej i (vi) strategię kontroli grzybów fitopatogenicznych na różnych etapach łańcucha rolno-spożywczego, w tym w polu i przechowalniach. W ostatnim podrozdziale „Wprowadzenie” Opiniowana zdefiniowała i scharakteryzowała zimną plazmę atmosferyczną oraz omówiła jej destrukcyjne oddziaływania na struktury mikroorganizmów i procesy fizjologiczno-biochemiczne w nich zachodzące. Podkreśliła, że skutki działania plazmy mogą być niejednakowe u różnych mikroorganizmów i mogą zależeć od użytej dawki, przy czym „dawka” nie jest pojęciem dokładnie zdefiniowanym i nie odnosi się do jednej cechy. W końcu omówiono zastosowania zimnej plazmy i zalety tych zastosowań. W tej części pracy Opiniowana wyraźnie podkreśliła, że większość przeprowadzonych badań dotyczyła bakterii, a badania, które zajmowały się grzybami fitopatogenicznymi na ogół nie uwzględniały wpływu zmieniających się warunków

środowiska na działanie plazmy w czasie uprawiania roślin w polu. To mocno uzasadniło podjęty kierunek i zakres badań.

Rozdział 3. przedstawia cele i zakres pracy. Celem było określenie skuteczności plazmy niskotemperaturowej wytwarzanej za pomocą reaktora z wyładowaniami z barierą dielektryczną pod ciśnieniem atmosferycznym z powietrzem jako gazem roboczym w inaktywowaniu czterech gatunków patogenów grzybowych z powierzchni tektury i drewna, materiałów powszechnie stosowanych w przechowywaniu. Testowanymi grzybami były *Fusarium oxysporum*, *F. tricinctum*, *Botrytis cinerea* i *Alternaria alternata*. Określano wpływ plazmy na 11 cech tych grzybów, w tym m.in. na integralność ich błon komórkowych, szybkość wzrostu, wrażliwość na wybrane fungicydy i patogeniczność. Chociaż przyjęcie wskazanego kierunku badawczego wiązało się z podjęciem różnorodnych, zwykle bardzo trudnych i czasochłonnych badań, z dysertacji wynika, że jej Autorka przyjęła te wyzwania i doskonale sobie z nimi poradziła.

Rozdział 4., „Materiał i metody”, rozpoczyna się scharakteryzowaniem używanych podłoży hodowlanych i buforów, po czym poinformowano o badanych gatunkach i szczepach grzybów, ich pochodzeniu oraz rodzaju opakowań, które wykorzystywano w testach skuteczności dezynfekcyjnej plazmy. Następnie opisano i zilustrowano reaktor plazmowy, którego używano w badaniach, podano sposoby analizowania wzbudzonych form przez reaktor i mierzenia stężeń ozonu oraz metody izolowania i identyfikowania grzybów strzępkowych pochodzących z powierzchni drewnianych skrzynek używanych w przechowywaniu warzyw. Po tych danych Autorka dysertacji bardzo szczegółowo opisała zastosowane metody badawcze, których łącznie było 24, a ich wybór i możliwości dowodzą, że były one wszechstronne, wiarygodne, nowoczesne i przez to powinny pozwolić na osiągnięcie przyjętych celów badań, wspomnianych wcześniej, gdyż m.in.:

1. Po prawidłowo prowadzonych hodowlach, szczepy grzybów identyfikowano na podstawie otrzymanych sekwencji molekularnych. Obecnie jest to najbardziej wiarygodna metoda identyfikowania mikroorganizmów.
2. W badaniach wpływu plazmy wykorzystywano metabolicznie aktywne grzyby, a nie zarodniki lub uśpione komórki reprodukcyjne, których używano we większości wcześniejszych badań. Takie podejście Opinowanej wynikało z potrzeby określenia możliwie jak najszerszego zakresu reakcji grzybów na oddziaływanie zimnej plazmy.
3. Wszystkie inne testy z zastosowaniem innych, zawsze nowoczesnych urządzeń, w tym mikroskopii skaningowej, prowadzono w bardzo starannie przygotowanych warunkach, które powinny pozwolić na otrzymanie wiarygodnych i porównywalnych wyników.
4. Zgromadzone wyniki badań analizowano prawidłowo wybranymi testami statystycznymi i zgodnie z szeroko przyjętymi zasadami, które są gwarantem trafnego wnioskowania.

Rozdział piąty, „Wyniki i dyskusja”, jest najobszerniejszy, 77-stronicowy, i składa się z siedmiu głównych podrozdziałów, z których dwa zawierają siedem i sześć podrozdziałów drugiego rzędu. Zawartość każdego podrozdziału świadczy o jego dużej wiarygodności naukowej wynikającej z dociekliwości, umiejętności obserwowania, wnioskowania i konfrontowania wyników własnych Doktorantki z osiągnięciami innych badaczy, jak również o Jej znaczącym wkładzie do wiedzy o wpływie plazmy niskotemperaturowej na strukturę i funkcje życiowe grzybowych patogenów roślin. Zgromadzone wyniki badań są wszechstronnie i jasno opisane oraz przedyskutowane. Ich wysoką wartość naukową istotnie uzasadniają perfekcyjnie przygotowane tabele i ryciny, jak również bardzo wymowne i profesjonalne fotografie cech makroskopowych i mikroskopowych struktur analizowanych grzybów.

Bardzo wartościową częścią rozprawy doktorskiej jest rozdział 6. „Podsumowanie i wnioski”, w którym Doktorantka słusznie, prawidłowo i z należytą skromnością oceniła osiągnięcia pracy własnej oraz przedstawiła stosowne wnioski i spostrzeżenia, których łącznie jest 31. Każdy z wniosków wyróżnia klarowność i zwięzłość, co świadczy o umiejętności przekazywania przez Opiniowaną bardzo dużej ilości danych w sposób skondensowany i przekonujący, a zatem zgodnie z zasadami języka naukowego.

Wnioski te mówią m.in., że:

1. Wielkość inaktywacji grzybów po traktowaniu plazmą rosła wraz z czasem traktowania, wynikała z działania różnych mechanizmów inaktywacji i różnej wrażliwości analizowanych grzybów.
2. Inaktywacja grzybów przez plazmę wynikała z uszkodzenia ściany komórkowej i zwiększania przepuszczalności błon komórkowych, które prowadziły do zmniejszenia aktywności metabolicznej i śmierci komórek.
3. Tempo wzrostu grzybni, ilość produkowanej biomasy i zmiany morfologiczne strzępek grzybni po traktowaniu plazmą różniły się w zależności od gatunku grzyba. Natomiast u wszystkich szczepów traktowanie plazmą obniżało tolerancję na co najmniej jeden fungicyd, z wyjątkiem preparatu Miedzian 50, który obniżył tolerancję wszystkich szczepów.
4. Traktowanie plazmą zmniejszało lub zwiększało potencjał patogeniczny, mierzony biomasą biofilmu i aktywnością metaboliczną, w zależności od gatunku grzyba i liczby traktowań. Zmniejszenia zaobserwowano w analizach *Alternaria alternata* i *Fusarium oxysporum*, a wzrosty u *Botrytis cinerea* i *F. culmorum*.
5. Wpływ plazmy na aktywność enzymatyczną, mierzoną ilością biomasy produkowanej na pożywkach z odpowiednim źródłem węgla, różnił się w zależności od rodzaju enzymu (porównywano celulazy, pektynazy, proteinazy i lipazy), gatunku i szczepu grzyba oraz liczby ekspozycji na plazmę.
6. Patogeniczność wszystkich grzybów również wynikała z ich zdolności do produkowania toksyn, które hamowały kiełkowanie nasion ogórka, które inkubowano w filtratach pochodzących z tych nasion. Traktowanie grzybów plazmą na ogół poprawiało kiełkowanie nasion i wzrost roślin. Podobne skutki oddziaływania plazmy zaobserwowano, gdy rośliny ogórka uprawiano w glebie inokulowanej wybranymi patogenami. W tym eksperymencie porównywano długość korzeni i części nadziemnych oraz świeżą oraz suchą masę roślin ogórka.

Rozdział 6. „Bibliografia” zawiera 326 prawidłowo wybranych publikacji. Zdecydowana większość tych publikacji pochodzi z renomowanych czasopism międzynarodowych i publikacje te zostały wydane stosunkowo niedawno. Świadczy to o dociekliwości i szerokiej wiedzy Doktorantki oraz Jej umiejętności wyboru danych literaturowych do racjonalnego konfrontowania wyników badań własnych.

Omówione wyżej części rozprawy zawierają nieliczne błędy, zbędne treści i braki, które należałoby wyeliminować podczas przygotowywania pracy do opublikowania. Są nimi m.in.:

1. Błędne lub niewłaściwe użycie słów w częściach „Streszczenie” i „Abstrakt”. Plazma niskotemperaturowa nie jest metodą, jest środkiem. W trzecim akapicie anglojęzycznego streszczenia „... and nitrogen species”, „species” powinno zostać zastąpione przez „forms”.
2. Zbyt obszerne informacje przedstawione we wszystkich podrozdziałach rozdziału „Wstęp”, które często nie są związane bezpośrednio z celami podjętych badań. Na przykład, w

podrozdziale zatytułowanym „Grzybowe patogeny roślin” przedstawiono podstawowe dane o tej grupie mikroorganizmów, w tym m.in. scharakteryzowano grupy troficzne grzybów, produkowane przez nie enzymy i skład ścian oraz błon komórkowych roślin. Zbyt obszernie omówiono cechy grzybów z rodzajów *Alternaria*, *Botrytis* i *Fusarium*, ich występowanie oraz szkodliwość względem wielu gatunków roślin, które nie były uwzględnione w badaniach Opiniowanej. Zdefiniowano podstawowe pojęcia i zagadnienia, jak np. „fungicydy”, ich sposoby działania i specyficzność oraz omówiono mechanizmy powstawania form odpornych na fungicydy i rodzaje tych form. Niepotrzebnie i zbyt szczegółowo opisano sposoby i warunki przechowywania owoców roślin oraz metody dezynfekowania urządzeń przechowalniczych. Również opis metod wytwarzania zimnej plazmy nie dotyczy bezpośrednio zakresu badań, które Opiniowana przeprowadziła. Szereg pojęć wyrażonych w języku polskim podano również w języku angielskim bez używania tych anglojęzycznych tłumaczeń w dalszych częściach pracy. Zawartość wstępu powinna ujawnić braki, niejasności lub sprzeczności we wiedzy, które spowodowały obranie kierunku badawczego określonego w celach pracy.

3. Zbędne podanie składowych użytych podłoży hodowlanych, roztworów i odczynników fizjologicznych. Wystarczyłoby podać źródła, które zawierają takie dane, ponieważ dotyczyły one substancji standardowych. Podanie składu np. podłoża hodowlanego byłoby uzasadnione w przypadku wprowadzonych modyfikacji.
4. Podawanie we wielu podrozdziałach „Wyniki i dyskusja” zakresów i metod badań, które były przedstawione w rozdziale „Materiał i metody”. Rozdział „Wyniki i dyskusja” powinien przedstawiać wyłącznie wyniki i ich omówienia (dyskusje).

Podsumowując, przedstawione uwagi negatywne nie obniżają wartości merytorycznej ocenianej rozprawy. Zostały one wymienione w celu poprawienia wysokiej jakości materiału, który koniecznie powinien zostać opublikowany.

Omawiana rozprawa doktorska zawiera liczne zalety wymienione wyżej, w tym przede wszystkim (i) wprowadza dużo nowych i bardzo wartościowych danych do wiedzy o wpływie plazmy niskotemperaturowej na grzyby patogeniczne roślin, (ii) zawiera cenne rekomendacje o charakterze aplikacyjnym, które sformułowano w wyniku przeprowadzonych analiz, (iii) jest efektem intensywnych i trudnych badań laboratoryjnych oraz (iv) świadczy o pracowitości, wiedzy i intuicji badawczej Autorki rozprawy, jak również o Jej dobrej predyspozycji do kontynuowania badań naukowych. Uważam, że opracowanie Pani mgr inż. Darii Katarzyny Nowinski zatytułowane „Ocena skuteczności atmosferycznej plazmy niskotemperaturowej przeciwko fitopatogennym grzybom” całkowicie spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Dlatego, stosownie do odpowiednich przepisów określonych w art. 187 ust. 1-2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.), przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej wnioski o dopuszczenie Pani mgr inż. Darii Katarzyny Nowinski do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony przedstawionej rozprawy. Jestem przekonany, że pracę tę należałoby nagrodzić.

