

Recenzja rozprawy doktorskiej

Mgr inż. Katarzyny Dziergowskiej pt. „Opracowanie bezpiecznych dla środowiska metod stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin” wykonanej pod opieką dr hab. inż. Izabeli Michalak, prof. uczelni i prof. dr hab. inż. Jerzego Detyny.

Recenzja została przygotowana na wniosek Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej z dnia 11 października 2023 r.

Badania związane z opracowaniem bezpiecznych dla środowiska metod stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin są realizowane w wielu ośrodkach naukowych czego potwierdzeniem są liczne prace naukowe opublikowane w renomowanych czasopismach. Tematyka ta jest ściśle związana z koniecznością poprawy ochrony środowiska poprzez zmniejszenie a czasami i eliminację syntetycznych preparatów wykorzystywanych w produkcji roślinnej i idealnie wpasowuje się w realizację założeń Europejskiego Zielonego Ładu w części dotyczącej rolnictwa. Tematyka ta jest też istotna z punktu widzenia konsumentów, gdyż jej wykorzystanie pozwoli uzyskać produkty wolne od zanieczyszczeń związanych z chemicznymi środkami ochrony roślin, co jest istotne zwłaszcza w przypadku upraw roślin warzywnych i owoców miękkich przeznaczonych do bezpośredniego spożycia. Wybierając tę tematykę mgr inż. Katarzyna Dziergowska wpisała się w istniejący trend badawczy starając się wypełnić lukę w wiedzy dotyczącej efektu synergii wynikającego z zastosowania łączonych metod stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. Tematyka rozprawy doktorskiej jest jak najbardziej trafna i aktualna pod względem naukowym i użytecznym.

Przedstawiona do oceny dysertacja składa się z sześciu rozdziałów głównych: problemu badawczego, przeglądu stanu wiedzy, celu i zakresu pracy, materiałów i metod, wyników i dyskusji oraz podsumowania.

W rozdziale 1. *Problem badawczy* Doktorantka przedstawiła wyzwania stojące przed produkcją rolną w aspekcie ilości i jakości wytwarzanych surowców roślinnych zwracając szczególną uwagę na konieczność zwiększenia wielkości i jakości plonów przy jednoczesnym ograniczaniu chemizacji rolnictwa.

Kolejny rozdział to 2. *Przegląd stanu wiedzy* liczący 53 strony, w którym mgr inż. Katarzyna Dziergowska w umiejętny sposób przedstawiła aktualny stan wiedzy z zakresu:

- przedsięwziętej stymulacji roślin czynnikami fizycznymi omawiając stymulację stałym i zmiennym polem magnetycznym oraz ultradźwiękami,
- makroalg jako surowca do wytwarzania bioproduktów do stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin charakteryzując wykorzystanie do tego celu poszczególnych rodzajów makroalg oraz omawiając technologie wytwarzania z nich ekstraktów i pozyskiwania/wytwarzania z ich pomocą nanocząstek oraz zagospodarowania pozostałości poekstrakcyjnych w kontekście gospodarki cyrkularnej,
- zastosowania czynników fizycznych i bioproduktów na bazie makroalg w rolnictwie omawiając przedsięwziętą stymulację nasion stałym i zmiennym polem magnetycznym, przedsięwziętą stymulację nasion ultradźwiękami oraz wykorzystanie różnych rodzajów makroalg w rolnictwie.

Rozdział ten Doktorantka zakończyła zwięzłym podsumowaniem wykazując lukę w istniejącym stanie wiedzy, która stała się wyzwaniem badawczym. Reasumując rozdział *Przegląd stanu wiedzy* oceniam wysoko. Autorka wykorzystując najnowszą dostępną literaturę wyczerpująco przedstawiła zagadnienia, które pozwoliły na sformułowanie hipotez oraz celu i zakresu pracy. Mam jedynie uwagę dotyczącą pierwszego akapitu na tronie 17. Akapit ten lepiej pasuje do rozdziału dotyczącego metod badawczych zastosowanych w rozprawie.

W kolejnym rozdziale 3. *Cel i zakres pracy* Doktorantka przedstawiła cel główny, który dotyczy opracowania bezpiecznych dla środowiska metod kiełkowania nasion i wzrostu roślin poprzez zastosowanie przedsięwziętej stymulacji nasion czynnikami fizycznymi oraz bioproduktami na bazie biomasy z makroalg (aplikowanych przedsięwzięt i w trakcie wzrostu roślin). Do realizacji celu głównego wyznaczyła 10 celów szczegółowych, które praktycznie są zakresem pracy. W rozdziale tym mgr inż. Katarzyna Dziergowska bazując na przeprowadzonej analizie literatury sformułowała 4 hipotezy badawcze:

1. Zaproponowane technologie waloryzacji biomasy odpadowej makroalg umożliwią wytworzenie skutecznych preparatów dla rolnictwa stymulujących kiełkowanie nasion i wzrost roślin.
2. Produkty na bazie makroalg (np. ekstrakty algowe, nanocząstki metali/tlenków metali) oraz czynniki fizyczne (np. pole magnetyczne, ultradźwięki) wpływają pozytywnie na kiełkowanie nasion i wzrost roślin.
3. Jednoczesna stymulacja nasion czynnikami fizycznymi oraz produktami na bazie makroalg pozwoli osiągnąć lepsze efekty dla parametrów takich jak: procent

kiełkowania nasion, masa części nadziemnej, długość części nadziemnej, długość korzenia, zawartość chlorofilu w liścieniach lub liściach.

4. Makroalgi oraz pozostałość poekstrakcyjna stanowią skuteczne biosorbenty do usuwania jonów metali ciężkich z roztworów wodnych (np. ze ścieków).

Ogólny schemat badań Doktorantka przedstawiła na rysunku, w którym niestety znalazł się błąd dotyczący wyrażenia „testy doniczkowe”. Zamiast tego sformułowania powinno się używać „testy wazonowe”. Błąd ten w pracy powielany jest wielokrotnie.

Podsumowując rozdział ten został bardzo dobrze opracowany i nie budzi zastrzeżeń oprócz niefortunnej nazwy testów wazonowych testami doniczkowymi.

W kolejnym rozdziale 4. *Materiał i metody* Doktorantka obszernie i szczegółowo przedstawiła schemat badań, odczynniki i sprzęt wykorzystany w badaniach oraz wybór makroalg i nasion. Omówiła wytwarzanie ekstraktu algowego metodą rozpuszczalnikową wspomaganą ultradźwiękami i biosyntezę nanocząstek tlenków metali z użyciem ekstraktów algowych oraz zagospodarowanie biomasy po ekstrakcji związków bioaktywnych z makroalg jako biosorbentu metali ciężkich. W rozdziale tym Autorka szczegółowo przedstawiła metody analityczne oraz metody stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin. W dalszej kolejności omówiła metodykę realizacji testów szalkowych, wazonowych i polowych przedstawiając zakres i kolejność realizowanych badań opisowo i graficznie. W rozdziale tym Autorka omówiła też metody analizy statystycznej wykorzystanej w dysertacji.

Rozdział ten został opracowany bardzo szczegółowo, co pozwala czytelnikowi na zrozumienie realizowanych badań oraz kolejności wykonywania poszczególnych czynności i pomiarów. Opracowana metodyka jest prawidłowa i kompletna pozwalająca na odtworzenie badań, co jest podstawowym kryterium przy ocenie tego rozdziału. W rozdziale tym występują nieliczne błędy i niedopatrzona np. marchew została zaliczona do rodziny kapustowate a powinna być zaliczona do rodziny selerowate. Wg danych z Instytutu Botaniki im. Władysława Szafera PAN nazwa polska soi to soja owłosiona (<http://bomax.botany.pl/ib-db/check/#gatinfo=1673>). Niestety część pracowników naukowych w swoich publikacjach używa nazwy soja warzywna, co też i uczyniła w dysertacji Doktorantka. Nie jest to oczywiście błąd ale w pracy naukowej lepiej używać oficjalnie przyjętego nazewnictwa. Przy omawianiu testów wazonowych zabrakło informacji ile nasion lub roślin stanowiło jedno powtórzenie. Doktorantka podała liczbę 3 lub 9 nasion na 1 cm. Proszę o wyjaśnienie ile roślin stanowiło jedno powtórzenie i ile nasion przypadało na jedną doniczkę oraz co oznacza 3 lub 9 nasion na 1 cm i jakiej objętości były doniczki wykorzystane w doświadczeniu.

Zasadniczą część pracy stanowi najważniejszy rozdział 5. *Wyniki i dyskusja*. Rozdział ten mgr inż. Katarzyna Dziergowska podzieliła na 5 podrozdziałów, które usystematyzowały analizę i pozwoliły na zapoznanie się z poszczególnymi częściami badań i ich interpretacją. W rozdziale tym wyniki badań wraz z wykonaną analizą statystyczną przedstawiono w 36 tabelach i na 11 rycinach.

Autorka w pierwszym podrozdziale 5.1. *Charakterystyka makroalg* przedstawiła i omówiła szczegółowo skład chemiczny makroalg. Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki zostały dobrze przedstawione oraz omówione. Informacje zawarte w tym podpodziale są wartościowe i stanowią podstawę do analiz i interpretacji dalszych badań przedstawionych w kolejnych częściach dysertacji.

Podrozdział 5.2. *Charakterystyka ekstraktów makroalgowych* zawiera analizę wytworzonych ekstraktów. Ogólnie podrozdział ten jest dobrze opracowany i oceniam go wysoko mam jednak dwa pytania:

1. W tabeli 23 dla pozostałości poekstrakcyjnej zawartość Ca wynosi 1777285 ± 443 mg/kg s.m. w związku z tym prosiłbym sprawdzenie uzyskanej masy Ca w tym badaniu oraz wyjaśnienie zaistniałej sytuacji,
2. Proszę też o wyjaśnienie dlaczego masa niektórych pierwiastków w 1 kg s.m. pozostałości poekstrakcyjnej jest większa niż masa w 1 kg s.m. makroalg.

Kolejny podrozdział 5.3. *Otrzymanie i charakterystyka nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi* to przedstawienie oraz omówienie analiz fizyko-chemicznych dotyczących otrzymanych nanocząstek. Przedstawione dane w tabelach oraz dokonany opis wyczerpująco informują o wpływie poszczególnych parametrów na wydajność biosyntezy nanocząstek. Doktorantka zaobserwowała, że największy wpływ na masę otrzymywanych nanocząstek tlenku cynku miało zastosowane pH oraz gatunek makroalg. W podrozdziale tym opisano też wyniki badań właściwości przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi. Badania te wykazały, że nanocząstki tlenku cynku mają właściwości przeciwbakteryjne sprawdzone na 5 szczepach bakterii, ale nie wykazały właściwości przeciwgrzybiczych testowanych na *Candidia albicans*. Nanocząstki tlenku miedzi wykazały mniejsze właściwości przeciwbakteryjne od nanocząstek tlenku cynku wobec badanych 5 szczepów bakterii i nie wykazały właściwości przeciwgrzybiczych wobec *C. albicans*. Podrozdział ten został opracowany i przedstawiony prawidłowo i nie budzi zastrzeżeń mam jedynie pytanie dotyczące kryterium jakim kierowała się Doktorantka przy doborze bakterii i grzyba do testowania nanocząstek.

Podrozdział 5.4. *Testy na roślinach* liczy 76 stron. Wynika to z faktu omówienia w nim wyników obszernych badań dotyczących:

- wpływu ekstraktów algowych na kiełkowanie nasion i wzrost roślin,
- wpływu wytworzonych nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi na kiełkowanie, wzrost roślin i odporność na rozwój grzybów na powierzchni nasion,
- wpływu przedsewnej stymulacji nasion czynnikami fizycznymi na kiełkowanie nasion i wzrost roślin.

Ta część dysertacji jest bardzo wartościowa pod względem praktycznego wykorzystania efektów wcześniej omówionych procesów ekstrakcji substancji z makroalg oraz biosyntezy nanocząstek tlenku cynku i tlenku miedzi oraz wykorzystania fizycznych metod stymulacji nasion. Wyniki uzyskane w trakcie badań zostały poddane analizie statystycznej i przedstawione w tabelach. W przypadku, gdy stwierdzono normalność rozkładu zmiennych do analizy statystycznej zastosowano test Tukeya, a wyniki przedstawiono w tabelach jako średnie z podaniem odchylenia standardowego. W przypadku braku normalności rozkładu stosowany był test nieparametryczny Kruskala-Wallisa, a prezentowane wyniki to mediana.

Analizując poszczególne części tego pododdziału stwierdzam, że mgr inż. Katarzyna Dziergowska wykonała ogromną pracę związaną z wykonaniem badań a następnie ich przygotowaniem, analizą i omówieniem.

W pierwszej kolejności Doktorantka omówiła wpływ ekstraktów roślinnych z zielenicy *Cladophora glomerata* i *Enteromorpha* sp. oraz brunatnicy *Fucus vesiculosus* na kiełkowanie nasion i wzrost soi owłosionej/warzywnej odmiany Abelina stwierdzając pozytywny wpływ wszystkich badanych ekstraktów na zawartość barwników w liściach siewek soi. Na pozostałe analizowane cechy wpływ ekstraktów był zróżnicowany, co zostało dokładnie przedstawione i omówione. Proszę tylko wyjaśnić dlaczego nazwy odmian pisane są w dysertacji kursywą i dlaczego odmianę soi Abelina zaliczyła Pani do polskich odmiana skoro wg Centralnego Ośrodka Badania Odmian Roślin Uprawnych jest to odmiana austriacka.

Kolejna część tego podrozdziału dotyczy wpływu ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* na kiełkowanie nasion i wzrost łubinu wąskolistnego. Przedstawione w tabeli oraz omówione szczegółowo wyniki dotyczą 5 okresów wegetacyjnych (2015-2019) dla 3 odmian łubinu wąskolistnego (Homer, Jowisz, Tytan). Ta część badań została bardzo dobrze wykonana i omówiona.

Kolejne przedstawione badania to wpływ ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* i nanocząstek ZnO i CuO biosyntezy przy użyciu tego ekstraktu na kiełkowanie nasion

i wzrost rzodkwi zwyczajnej. Przedstawione w tabeli wyniki i ich interpretacja nie budzą zastrzeżeń i wnoszą nowe informacje w zakresie stosowania ww. ekstraktów i nanocząstek.

W dalszej kolejności Doktoranta analizowała wpływ nanocząstek ZnO biosyntezyowanych przy użyciu ekstraktu z brunatnicy *Fucus vesiculosus* na kiełkowanie nasion i wzrost gorczycy białej. Analiza ta dotyczyła wpływu różnych stężeń nanocząstek tlenku cynku aplikowanych doglebowo i dolistnie. Wyniki zostały przedstawione i omówione poprawnie jedynie moje wątpliwości budzi zapis wyników dla których wg opisu pod tabelą, powinna znajdować się mediana, a w tabeli podano wartości wraz z odchyleniem standardowym (tabela 37a - Świeża masa części nadziemnej [g]). Proszę o wyjaśnienie tego sposobu zapisu danych oraz sposobu oznaczenia literami istotnych różnic między poszczególnymi kombinacjami zarówno przy zastosowaniu testu parametrycznego, jak i nieparametrycznego, gdyż przedstawiony opis jest rzadko spotykany i w mojej ocenie utrudniający analizę wyników. Sytuacja ta dotyczy większości tabel w tym rozdziale.

Kolejne analizowane badania dotyczyły wpływu nanocząstek ZnO i CuO biosyntezyowanych przy użyciu ekstraktu z zielenicy *Enteromorpha* sp. na kiełkowanie nasion i wzrost gorczycy białej oraz zawartość cynku i miedzi w części nadziemnej. Wyniki dotyczące tego badania zostały przedstawione prawidłowo a ich interpretacja jest logiczna i nie budzi zastrzeżeń.

Autorka w dalszej części tego podrozdziału przedstawiła wpływ stałego pola magnetycznego i ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* na kiełkowanie i wzrost rzodkwi zwyczajnej. Omówione wyniki badań dotyczyły jednoczesnego stosowania pola magnetycznego i ww. ekstraktu. Zarówno przedstawione w tabelach wyniki badań, jak i ich interpretacja nie budzą zastrzeżeń jednak nasuwają się dwa pytania:

1. Dlaczego w tym przypadku i kilku innych nie zastosowano analizy statystycznej przynajmniej dwuczynnikowej?
2. Dla niektórych zmiennych zamieszczonych w tabelach nie podano czy są to wartości średnie czy mediana lub może jeszcze jakaś inna wartość np.: tabela 41b „ilość liści i powierzchnia liścia” oraz jaki rodzaj testu statystycznego zastosowano dla tych zmiennych.

Kolejne omówione badania to ocena wpływu ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* i stałego pola magnetycznego na kiełkowanie nasion i wzrost soi owłosionej/warzywnej. Badania te zostały przeprowadzone prawidłowo. Opis wyników jest poprawny i proszę jedynie o wyjaśnienie danych zawartych w tabeli 44b i 44c dotyczących masy nasion z 10 strąków. Proszę o ich sprawdzenie i przedstawienie poprawnych danych. Z przedstawionych danych

wynika, że w jednym strąku powinno być ok. 58 nasion przyjmując, że MTN dla badanej odmiany wynosi 180 g.

W tej części pracy na stronie 206 Doktoranta napisała „*Porównując wszystkie wyniki zebrane podczas badań polowych (Tabela 44bc), można zauważyć, iż wyniki te znacznie się różniły w obu latach. Może to wynikać z różnic w materiale siewnym, wykorzystanym do badań w danym roku.*” Proszę o wyjaśnienie jakie różnice wystąpiły w wykorzystanym materiale siewnym, gdyż w dysertacji nie ma na ten temat informacji.

Kolejne omawiane przez Doktorantkę badania dotyczyły wpływu ekstraktu z brunatnicy *Sargassum* sp. i zmiennego pola magnetycznego na kiełkowania nasion i wzrost marchwi zwyczajnej oraz wpływu ekstraktów z krasnorostów *Porphyra* sp. i *Palmaria palmata* oraz ultradźwięków na kiełkowanie nasion i wzrost rzodkwi zwyczajnej. Badania te zostały przedstawione i omówione poprawnie. Uzyskane wyniki i ich analiza pozwoliły na wybranie najkorzystniejszej kombinacji badanych czynników.

Ostatnim badaniem omawianym w podrozdziale 5.4 jest wpływ nanocząstek tlenku cynku biosyntezowanych z użyciem ekstraktu z zielenicy *Cladophora glomerata* i ultradźwięków na kiełkowanie nasion rzodkwi zwyczajnej oraz rozwój grzybów obecnych na powierzchni nasion. Zarówno przedstawione w tabelach wyniki, jak i ich omówienie zostały przeprowadzone poprawnie, co pozwoliło doktorantce stwierdzić, że zastosowanie obu metod (roztwory nanocząstek tlenku cynku i ultradźwięków) w przedsięwziętej stymulacji nasion może być skuteczną metodą zapobiegania rozwojowi grzybów na ich powierzchni.

Krótkim (6 stron) ale bardzo interesującym i wnoszącym do dysertacji aspekt gospodarki cyrkularnej jest podrozdział 5.5. *Zagospodarowanie pozostałości poekstrakcyjnej do biosorpcji jonów Cr(III)*. W podrozdziale tym przedstawiono wyniki dla zastosowania pozostałości poekstrakcyjnej z sześciu makroalg jako biosorbentu jonów Cr(III) oraz wyniki badań dotyczących właściwości biosorbencyjnych samych makroalg. Doktorantka wykazała przydatność pozostałości poekstrakcyjnych jako biosorbentu jonów Cr(III).

Rozdział 6. *Podsumowanie* został opracowany prawidłowo. Mgr inż. Katarzyna Dziergowska przedstawiła w nim najważniejsze efekty realizowanych badań i wykazała osiągnięcie założonego celu pracy oraz potwierdziła wszystkie cztery hipotezy badawcze przedstawione w rozdziale 3. *Cel i zakres pracy*.

Pod koniec dysertacji mgr inż. Katarzyna Dziergowska zamieściła zestawienie wykorzystanej w pracy literatury. Bibliografia ta liczy 469 pozycji prawie w większości opublikowanej w renomowanych czasopismach naukowych.

W przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej na końcu znalazło się zestawienie dorobku naukowego Doktorantki, na który składa się 7 publikacji naukowych i 2 rozdziały w monografiach. Mgr inż. Katarzyna Dziergowska prezentowała wyniki swoich badań na 9 konferencjach w tym jednej zagranicznej oraz odbyła 2 zagraniczne (Włochy) staże naukowe i jeden krajowy.

Ostatnim elementem dysertacji są *Załączniki* dotyczące zastosowania makroalg do biosorpcji jonów metali. Są to bardzo interesujące informacje wynikające z analizy literatury dotyczącej tego przedmiotu i w mojej opinii powinny zostać przedstawione i omówione w przeglądzie literatury lub zawarte w dyskusji w podrozdziale 5.5.

Recenzowana praca doktorska jest poprawnie napisana zarówno stylistycznie, jak i językowo. Podział pracy na rozdziały i poddziały jest prawidłowy, układający się w logiczną całość. Na podkreślenie zasługuje fakt podjęcia przez Doktorantkę ogromnego wyzwania dotyczącego realizacji bardzo rozbudowanych badań interdyscyplinarnych zarówno laboratoryjnych, jak i polowych. Mgr inż. Katarzyna Dziergowska założyła i realizowała bardzo ambitny cel badawczy, którego rozwiązanie wymaga w zasadzie udziału specjalistów z różnych dziedzin nauki. Moim zdaniem przedstawiona w dysertacji tematyka jest ważna z naukowego i praktycznego punktu widzenia oraz wnosi nowe informacje z zakresu realizowanych badań i powinna być rozwijana przez Doktorantkę w dalszej swojej pracy badawczej. Przedstawiona dysertacja jest niewątpliwie bardzo interesującym opracowaniem naukowym jednak nie jest pozbawiona pomyłek i niejasności dlatego proszę Autorkę o ustosunkowanie się do wymienionych w recenzji pytań i uwag.

Podsumowując swoją recenzję stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Dziergowskiej pt.: „Opracowanie bezpiecznych dla środowiska metod stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu roślin” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. poz. 1668 z późn. zm.). Wobec powyższego, wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr inż. Katarzynę Dziergowską do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

