



RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Tytuł pracy: *Dyniowate i ich metabolity wtórne jako stymulatory biologicznej remediacji gleby zanieczyszczonej herbicydami z grupy fenoksy kwasów*

Autor pracy: Elżbieta Mierzejewska

Promotorzy: Prof. UŁ dr hab. Magdalena Urbaniak

Prof. Jaco Vangronsveld

OCENA OGÓLNA

- *Oryginalność, zgodność z dziedziną badań oraz możliwe zastosowania:*

Celem pracy *“Dyniowate i ich metabolity wtórne jako stymulatory biologicznej remediacji gleby zanieczyszczonej herbicydami z grupy fenoksy kwasów”* autorstwa Elżbiety Mierzejewskiej, wykonanej pod kierunkiem Prof. UŁ dr hab. Magdaleny Urbaniak i Prof. Jaco Vangronsveld’a było testowanie dwóch hipotez:

a) H1: Dyniowate i ich charakterystyczne wtórne metabolity (kwas ferulowy – KF i kwas syringowy – KS) stymulują potencjał biodegradacyjny bakterii glebowych i roślinnych do usuwania strukturalnie podobnych herbicydów fenoksy kwasowych (HF: 2,4-D i MCPA);

b) H2: Wybrane WMR łagodzą toksyczny wpływ strukturalnie pokrewnych HF na środowisko.

Testowanie ww. hipotez wykonano w oparciu o szereg eksperymentów, których wyniki zawarto w czterech opublikowanych artykułach i dwóch manuskryptach przesłanych do renomowanych i bardzo wysoko ocenianych czasopism z dziedziny biologii, ochrony środowiska i ekotoksykologii, znajdujących się na liście A MEiN. Wkład Elżbiety Mierzejewskiej w powstanie tych prac wyniósł ponad 50%, co można uznać za bardzo znaczący udział.

Moje ogólne wrażenie po przeczytaniu rozprawy doktorskiej mgr inż. Elżbiety Mierzejewskiej jest bardzo pozytywne. Podjęty temat jest nowatorski i interesujący. Badania dostarczają kluczowych informacji na temat dyniowatych i ich wtórnych metabolitów jako stymulatorów biologicznej rekultywacji gleby skażonej herbicydami z grupy fenoksy kwasów. Praca jest odpowiedzią na potrzebę uzupełnienia brakującej luki badawczej w tym temacie. Badania zostały przeprowadzone rzetelnie, praca posiada prawidłową strukturę i opatrzona jest szeregiem interesujących wyników, które stanowią istotny wkład w rozwój dziedziny nauk biologicznych, w szczególności biologii i ekotoksykologii. Uzasadnienie podjęcia badań nad zastosowaniem WMR w celu stymulacji biodegradacji strukturalnie podobnych HF zostało sumiennie opisane i poparte licznymi danymi literaturowymi. Badania prowadzone w ramach pracy mają charakter bardzo interdyscyplinarny i łączą wiele technik chemicznych, molekularnych, biochemicznych i ekotoksykologicznych.

Główne wnioski i obserwacje uzyskane na podstawie przedstawionej mi do oceny rozprawy są następujące:

1. Wykazano potencjał wtórnych metabolitów roślinnych (WRM) jako stymulatorów biodegradacji strukturalnie podobnych herbicydów fenoksy kwasowych (HF) przez





UMCS



UMCS

mikroorganizmy glebowe. Stymulujące działanie WRM było ściśle uzależnione od doboru odpowiedniej kombinacji HF-WRM i stężenia HF.

2. Wykazano zwiększoną aktywność mikrobiologiczną gleby skażonej MCPA w obecności kwasu syringowego (KS), co może wpływać na wzmocnienie potencjału biodegradacyjnego mikrobiomu glebowego w odniesieniu do MCPA.

3. Jednoczesne dodanie do gleby herbicydu i WMR (MCPA i KS) wpłynęło na wzrost wyspecjalizowanych taksonów bakterii (np. *Pseudomonas*, *Burkholderia* i *Sphingomonas*), które są zdolne do degradacji tego herbicydu. Efektu tego nie zaobserwowano w glebie z dodatkiem MCPA bez KS. Uzyskane wyniki mogą mieć praktyczne zastosowanie w procesach biologicznej remediacji gleb skażonych MCPA.

4. WMR przyspieszają usuwanie HF z różnych matryc środowiskowych. Proces ten jest jednak silnie zależny od początkowych stężeń HF oraz odpowiedniego doboru WMR.

5. Dodanie KS do matryc zanieczyszczonych MCPA złagodziło toksyczne działanie herbicydu, czego nie zaobserwowano w przypadku KF. Wskazuje to na znaczenie doboru odpowiedniego WMR w procesie remediacji.

6. Łagodzący wpływ WRM na roślinę poddaną toksycznemu działaniu HF jest uzależniony od zastosowanego gatunku (cukinia vs. ogórek).

- *Jakość techniczna, spójność pomiędzy częścią teoretyczną i eksperymentalną pracy, kompletność*

Rozprawa od strony zarówno teoretycznej jak i eksperymentalnej jest przekonująca i odpowiednio przygotowana. Rozprawa jest w większości dobrze napisana. Autorka miała możliwość pracy i posługiwania się różnorodnymi narzędziami badawczymi i zgodnie z oświadczeniami współautorów, miała wiodący udział w tworzeniu artykułów będących podstawą przedłożonej mi do oceny rozprawy.

- *Jakość i przejrzystość:*

Rozprawa została napisana przejrzystym językiem, zastosowane metody dogłębnie opisane (z małymi wyjątkami), a dyskusja została przygotowana w sposób rzetelny i konsekwentny.

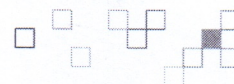
- *Wyniki (publikacje, zgłoszenia patentowe):*

Pani Mierzejewska wykazała się doskonałymi umiejętnościami analitycznymi oraz wysoką jakością swojej pracy, czego dowodem są opublikowane do tej pory cztery recenzowane prace w renomowanych czasopiśmie, w których doktorantka występuje jako pierwszy autor.

SZCZEGÓLWE UWAGI/OCENA KRYTYCZNA

Wstęp

Wstęp jest zdecydowanie najsłabszą częścią pracy. Składa się on z pięciu krótkich części, w których omówiono kilka aspektów bezpośrednio związanych z pracą doktorską. Sekcja jest bardzo ogólna a tematy w niej zawarte potraktowane zostały powierzchownie. Spodziewałbym się silniejszego powiązania tego działu z konkretnymi problemami analizowanymi w poszczególnych publikacjach. We wstępie należałoby ukazać luki badawcze w związku z planowanymi





UMCS



UMCS

badaniami. Problem zanieczyszczenia gleb MCPA i jego metabolitami, zwłaszcza w kontekście gleb Polski, powinien być bardziej szczegółowo opisany. Zabrakło mi m.in. mapy obrazującej poziom zanieczyszczenia gleby 2,4-D/MCPA, lub informacji dotyczącej problemu związanego z zanieczyszczeniem środowiska 2,4-D/MCPA w Polsce. Opis metod fitoremediacji powinien zostać przedstawiony w bardziej krytyczny sposób, jako że żadna z metod nie jest idealna. Mile widzianym aspektem byłoby przedstawienie „za i przeciw” opisanych metod. Stanowiłoby to istotny wkład autorki w światową literaturę.

Wnioski

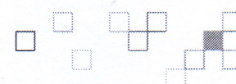
W sekcji podsumowującej pominięte zostało najważniejsze przesłanie płynące z przeprowadzonych badań. Moim zdaniem uzupełnienie rozprawy o podrozdział „*Perspektywy na przyszłość*” stanowiłoby ciekawe uzupełnienie wyników i wniosków będących rezultatem rozprawy doktorskiej.

Bibliografia

Sekcja Bibliografia mogłaby być przygotowana dokładniej; brakuje m.in. niektórych informacji bibliograficznych (np. Morillo i Villaverde, 2017). W tytułach rękopisów łacińskie nazwy roślin należy podawać kursywą.

Jak wspominałem na początku niniejszej recenzji, tezy i wyniki przedstawionej mi do opinii rozprawy doktorskiej zostały już opublikowane w czasopismach z dziedziny nauk biologicznych. Tym samym prace będące podstawą rozprawy doktorskiej były już recenzowane przez dwóch (lub więcej) ekspertów w tej dziedzinie. Stąd moje uwagi dotyczące już opublikowanych prac są raczej wskazówką, czy też sugestią, mogącą pomóc w realizacji przyszłych badań:

1. Opis gleby jest bardzo ogólny: brakuje informacji o ważnych parametrach glebowych (całkowity węgiel organiczny, suma kationów zasadowych, rozpuszczony węgiel organiczny), które mogą wpływać na losy (biodostępność/dystrybucję) pestycydów w glebie (Mierzejewska i in. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104 (2020) 200-205).
2. Nie podano metodyki oznaczania metali śladowych (Mierzejewska i in. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104 (2020) 200-205).
3. Brakuje granicy wykrywalności przy zastosowaniu metody ELISA w przypadku 2,4-D, co jest istotnym parametrem przy ocenie strat tego związku w badanych układach doświadczalnych (Mierzejewska i in. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104 (2020) 200-205).
4. Brakuje istotnych statystycznie różnic w wynikach przedstawionych w tabeli 2 (Mierzejewska i in. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104 (2020) 200-205).
5. Szkoda, że autorzy nie zastosowali bardziej zaawansowanych technik analitycznych do śledzenia potencjalnych metabolitów 2,4-D lub MCPA powstających w trakcie prowadzenia eksperymentów.
6. Myślę, że praca byłaby bardziej kompleksowa, gdyby zastosowano gleby o różnych właściwościach. Powszechnie wiadomym jest, że materia organiczna lub/i pH są głównymi czynnikami, które wpływają na losy pestycydów w glebie. Interesujące byłoby zatem oszacowanie efektywności różnych czynników w kontekście różnych gleb. „Substral Osmocote”





UMCS



UMCS

(wykorzystywany w kilku pracach) to sztuczna gleba, która moim zdaniem nie odda rzeczywistych warunków środowiskowych.

7. Należałoby wzbogacić pracę o wyniki analizy 2,4-D lub MCPA w glebie stosowanej w poszczególnych doświadczeniach.

8. Określenie fitotoksyczności za pomocą testu Phytotoxkit jest dla mnie niezrozumiałe. Phytotoxkit jest używany do badania fitotoksyczności fazy stałej, podczas gdy autorka użyła go do testowania ekstraktu glebowego. Brakuje informacji jak został przeprowadzony ten test i jaką fazę stałą zastosowano? Interesujące byłoby również określenie i porównanie potencjalnych efektów toksykologicznych (lub ich braku) związanym z zastosowaniem WMR i HF w odniesieniu do niektórych bezkręgowców (np. dżdżownic lub *Folsomia candida*).

Wniosek o wyróżnienie

Pomimo wyżej opisanych drobnych uwagi i sugestii uważam, że rozprawa doktorska Pani Elżbiety Mierzejewskiej prezentuje wysoki poziom merytoryczny oraz szczególne walory poznawcze i aplikacyjne. Rozprawa została wykonana na bardzo wysokim poziomie z zastosowaniem szeregu nowoczesnych metod badawczych i interdyscyplinarnego podejścia do przedstawionej problematyki. Wyniki będące podstawą rozprawy zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z listy A MEiN. Z całym przekonaniem składam wniosek rekomendujący Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne podjęcie uchwały o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.

Podsumowując, Przedstawiona do oceny dysertacja doktorska spełnia ustawowe kryteria (art. 13, ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz.U. z 2003 r., nr 65, poz 595, z późn. zm. Doktorantka przeprowadziła wiele szczegółowych badań i uzyskała nowe, oryginalne wyniki, które poszerzają naszą wiedzę na temat wybranych metabolitów wtórnych roślin w dystrybucji i degradacji pestycydów. Przedstawiona mi do oceny praca spełnia wszystkie kryteria rozprawy doktorskiej. Biorąc pod uwagę powyższe wnioskuję o dopuszczenie rozprawy do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz jej wyróżnienie.

