

Lublin, 06.04.2025

prof. dr hab. Magdalena Frąc
Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego
Polskiej Akademii Nauk
Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina
Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej
ul. Doświadczalna 4
20-290 Lublin

Rada Dyscypliny Nauki Biologiczne
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Joanny Trzcińskiej-Wencel
pt. „*Nanocząstki srebra i tlenku cynku pochodzenia grzybowego: biosynteza, aktywność*
***przeciwdrobnoustrojowa i stymulatory wzrostu kukurydzy*”**

Rozprawa doktorska **mgr Joanny Trzcińskiej-Wencel** została wykonana na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, w ramach kształcenia w Szkole Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych. Tematyka rozprawy doktorskiej wpisuje się w badania prowadzone w Zespole prof. dr hab. Patrycji Golińskiej – promotora pracy oraz dr Magdaleny Wypij – promotora pomocniczego.

1. Tematyka i struktura rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Joanny Trzcińskiej-Wencel dotyczy niezwykle ważnej tematyki bezpieczeństwa żywnościowego oraz wykorzystywanych w uprawie roślin środków produkcji, które są stale ograniczane zmieniającymi się przepisami i dostępnością skutecznych rozwiązań, co powoduje konieczność opracowania nowych metod kontroli fitopatogenów oraz efektywnych stymulatorów wzrostu roślin.

W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój nowego obszaru badawczego związanego z nanotechnologiami oraz ich wykorzystaniem w rolnictwie, co przyczynia się do rozwoju nowatorskich rozwiązań dla ochrony i stymulacji wzrostu roślin. Trwają intensywne badania nanocząstek, które na coraz szerszą skalę wkraczają do wielu gałęzi przemysłu, w tym również mają zastosowania rolnicze.

Oprócz dotychczas stosowanych nanocząstek syntetyzowanych z wykorzystaniem metod chemicznych i fizycznych, jednym z nowo rozwijanych obszarów badawczych jest ten ukierunkowany na otrzymywanie nanocząstek metali w wyniku syntezy przez grzyby

strzępkowe oraz testowanie ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej i biostymulacyjnej. Doniesienia w literaturze naukowej wskazują, że do biosyntezy nanocząstek wykorzystywano wiele gatunków grzybów, w tym z rodzaju *Fusarium*, jednakże mechanizm biologicznej syntezy nanocząstek metali nie został w pełni opisany.

Rozprawa doktorska mgr Joanny Trzcńskiej-Wencel oparta jest na pracach badawczych przeprowadzonych z użyciem nanocząstek srebra i tlenku cynku, obejmujących również ich biosyntezę, w celu określenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej tych związków oraz ich przydatności w stymulacji wzrostu kukurydzy, biorąc pod uwagę ich właściwości fizykochemiczne oraz wydajność syntezy przez testowane grzyby strzępkowe.

W skład przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej wchodzi dwa opublikowane rozdziały w monografiach, wprowadzające w tematykę biosyntezy nanocząstek z wykorzystaniem grzybów oraz ich toksyczności dla roślin, dwa oryginalne artykuły naukowe, opublikowane w punktowanych czasopismach posiadających *impact factor*, które dotyczą właściwości nanocząstek srebra i tlenku cynku pochodzenia grzybowego, w tym ich działania antybakteryjnego, hamującego wzrost fitopatogenów, a także oddziaływania na kiełkowanie nasion i wzrost roślin. Dodatkowo rozprawa doktorska zawiera nieopublikowane wyniki oryginalnych badań tematycznie związanych w opublikowanymi pracami, dotyczące wpływu bionanocząstek srebra na system antyoksydacyjny kukurydzy, biorąc pod uwagę odpowiedź specyficzną dla organu rośliny oraz zależną od zastosowanej dawki związków. Wyniki zebrane w drugim nieopublikowanym manuskrypcie dotyczą biosyntezy nanocząstek tlenku cynku przez szczep *Fusarium solani* IOR 825 oraz ich wpływ na wzrost kukurydzy. Dysertacja jest spójna tematycznie, a Doktorantka we wszystkich pracach wchodzących w skład rozprawy jest pierwszą autorką, co podkreśla Jej wiodącą rolę w przeprowadzonych badaniach, opracowaniu wyników i przygotowaniu manuskryptów artykułów naukowych, co również wynika z przedłożonych oświadczeń współautorów publikacji.

Rozprawa doktorska mgr Joanny Trzcńskiej-Wencel liczy 213 stron, a także zawiera sześciostronicowy życiorys naukowy Doktorantki. Ma ona typowy układ dla prac doktorskich, w skład których wchodzi opublikowane artykuły naukowe, obejmując następujące części: Wykaz skrótów, Streszczenia w języku polskim i angielskim, Wykaz publikacji i manuskryptów wchodzących w skład rozprawy, Wstęp, składający się z kilku rozdziałów i podrozdziałów, Cel i hipotezy badawcze, Materiał i metody, Omówienie wyników badań, Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, Podsumowanie i wnioski, oraz spis Literatury.

Rozprawa doktorska podejmuje bardzo aktualne i wymagające pogłębienia wiedzy zagadnienia dotyczące bionanocząstek i wykorzystania nanotechnologii w rolnictwie, stanowiąc ważny element ochrony roślin oraz stymulacji ich wzrostu, wpisując się w zagadnienia bezpieczeństwa żywnościowego. **W związku z powyższym z pełnym przekonaniem stwierdzam, że podjęte przez Doktorantkę badania są nowatorskie i wnoszą istotny wkład w rozwój nauk ścisłych i przyrodniczych oraz dyscypliny nauki biologiczne.**

2. Wiedza kandydatki

We wstępie liczącym 11 stron oraz w dwóch rozdziałach w monografiach Doktorantka zaprezentowała zagadnienia dotyczące nanotechnologii, odnosząc się do osiągnięć tego obszaru nauki, które zrewolucjonizowały wiele obszarów, w tym medycynę, elektronikę, przemysł czy rolnictwo. Doktorantka omówiła dotychczas wykorzystywane metody syntezy nanocząstek, a także, w ramach rozdziału w monografii dokładnie przedstawiła biosyntezę tych związków z wykorzystaniem grzybów. W ramach dysertacji został przedstawiony stan wiedzy z zakresu mechanizmów syntezy nanocząstek metali, uwzględniając również mechanizmy hipotetyczne. W kolejnych podrozdziałach mgr Joanna Trzcińska-Wencel omówiła wyzwania stojące przed sektorem rolnictwa, zwracając uwagę na podatność roślin, w tym w szczególności kukurydzy, na biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe, pojawiające się w uprawach w związku z obserwowanymi zmianami klimatu. Doktorantka odniosła się również do aktualnych danych produkcji roślinnej w Polsce i na świecie. Doktorantka omówiła sposoby i rozwiązania wychodzące naprzeciw trudnościom zrównoważonego rolnictwa, podkreślając konieczność doskonalenia dostępnych praktyk rolniczych, zabiegów agrotechnicznych, rozwoju metod kontroli chwastów, szkodników i patogenów roślin, podkreślając znaczenie kondycjonowania nasion. W końcowej części wstępu oraz w drugim rozdziale przeglądowym Doktorantka podsumowała dotychczasowy stan wiedzy w zakresie zastosowania nanotechnologii w rolnictwie, zwracając również uwagę na procesy pobierania i transportu nanomateriałów w roślinach, a także ich oddziaływanie na wzrost i rozwój roślin. W dysertacji bardzo dokładnie omówione zostały zagadnienia związane ze zwalczaniem patogenów w uprawach roślin, podkreślając zdolności adaptacyjne mikroorganizmów i związaną z nimi narastającą ekspansję oporności grzybów fitopatogennych na stosowane dotychczas środki ochrony roślin. Doktorantka przedstawiła potencjał nanotechnologii w dostarczaniu alternatywnych środków, w tym nanocząstek o aktywności

przeciwdrobnoustrojowej. W kolejnym podrozdziale zostały nakreślone możliwości promowania wzrostu roślin przez konwencjonalne i alternatywne, nowoczesne rozwiązania, w tym bazujące na nanocząstkach metali wykorzystywanych nie tylko do kontroli fitopatogenów, ale również do stymulacji wzrostu roślin i zwiększania ich produkcji. Doktorantka skupiła się także na omówieniu zagrożeń związanych z toksycznością nanocząstek oraz podkreśliła, że niezbędne są działania zmierzające do ujednolicenia systemów oceny wpływu nanomateriałów na środowisko i organizmy w celu ograniczenia ryzyka ich akumulacji w roślinach, a następnie włączenia do łańcucha pokarmowego.

W recenzowanej rozprawie doktorskiej Doktorantka jasno sformułowała jeden główny cel swojej rozprawy doktorskiej, obejmujący biosyntezę nanocząstek srebra i tlenku cynku z wykorzystaniem szczepów grzybowych z rodzaju *Fusarium* oraz określenie ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej i stymulującej wzrost kukurydzy. Dodatkowo sformułowała 4 cele szczegółowe odnoszące się do poszczególnych etapów badań, które przedstawiła na schemacie w powiązaniu z poszczególnymi publikacjami wchodzącymi w skład rozprawy doktorskiej. Postawione przez Doktorantkę hipotezy badawcze były weryfikowane w ramach prowadzonych eksperymentów i logicznie korespondują z zaplanowanymi etapami badań.

Przedstawiony wstęp, dwa rozdziały w monografiach oraz cel pracy i hipotezy badawcze stanowią bardzo wartościowy przegląd literatury związanej z tematyką ocenianej dysertacji, prezentując dotychczasowy stan wiedzy z zakresu problematyki, wpisującej się w dyscyplinę nauki biologiczne. Ta część dysertacji jednoznacznie wskazuje, że Doktorantka posiada ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauki biologiczne.

3. Samodzielność Kandydatki

Oceniana rozprawa doktorska mgr Joanny Trzcińskiej-Wencel wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktorantkę, co potwierdza bardzo dobrze przygotowana część metodyczna dysertacji, w formie podsumowania metod badawczych i stosowanego materiału badawczego w rozdziale „III Materiał i metody” oraz w formie szczegółowego opisu eksperymentów i badań znajdującego się w części metodycznej poszczególnych artykułów naukowych i manuskryptów publikacji. Doktorantka przedstawiła szczepy grzybów wykorzystane w badaniach optymalizacji syntezy nanocząstek, a także przedstawiła metody badań, które wykorzystwała do oznaczenia właściwości fizykochemicznych i aktywności nanocząstek. W

ramach poszczególnych prac przedstawiła warunki hodowli grzybów oraz biosyntezy nanocząstek, a także wymieniła szczepy mikroorganizmów wykorzystanych w badaniach aktywności przeciwdrobnoustrojowej. W poszczególnych publikacjach omówiono zastosowane metody badawcze do charakterystyki właściwości fizykochemicznych nanocząstek, obejmujące m.in. dyfrakcję proszkową promieniowania rentgenowskiego, transmisyjną mikroskopię elektronową czy spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera. Doktorantka posługiwała się również szeregiem metod do oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej nanocząstek, w tym m.in. wyznaczyła wartości MIC, MBC, MFC badanych związków metodą mikrorozcieńczeń, określiła hamowanie formowania biofilmu na podstawie barwienia fioletem krystalicznym i aktywności hydrolitycznej biofilmów, czy też oznaczyła zdolność hamowania rozwoju grzybni fitopatogenów metodą dyfuzji w agarze. Kolejne eksperymenty obejmowały wpływ przedsięwziętego traktowania ziarniaków z użyciem nanocząstek srebra oraz tlenku cynku na kiełkowanie oraz wzrost siewek kukurydzy. W przeprowadzonych badaniach zastosowano adekwatne metody analizy statystycznej, jednakże nie znalazłam w pracy jednoznacznej informacji o liczbie powtórzeń wykorzystanych w poszczególnych eksperymentach, stąd proszę o uściślenie tych informacji podczas obrony rozprawy doktorskiej.

Przedstawiony w dysertacji zakres badań oraz szerokie spektrum metod badawczych wskazują, że Doktorantka pozyskała umiejętność samodzielnej pracy badawczej. Na podstawie ocenianej rozprawy doktorskiej można stwierdzić, że Doktorantka zapoznała się z dużym wachlarzem metod badawczych i analitycznych, co sprawia, że posiada wysokie kompetencje i dobre przygotowanie do pracy badawczo-laboratoryjnej i naukowej. **Zakres badań przeprowadzonych przez Doktorantkę, prezentowanych w rozprawie, wskazuje na to, że mgr Joanna Trzcińska-Wencel jest doskonale przygotowana do pracy naukowej, posiadając umiejętność posługiwania się szerokim wachlarzem technik badawczych.**

4. Oryginalność rozprawy

Chociaż w ostatnich latach obserwowany jest dynamiczny wzrost zainteresowania nanotechnologiami, to wciąż wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi i wymaga badań w celu pogłębienia wiedzy, zwłaszcza w odniesieniu do nowego kierunku syntezy i wykorzystania bionanocząstek, które wytwarzane są z udziałem mikroorganizmów. Podjęta przez Doktorantkę problematyka badawcza, w ramach ocenianej rozprawy doktorskiej, skupia się

na podejściu obejmującym nowatorskie, biologiczne syntetyzowanie nanocząstek jako skutecznych środków przeciwdrobnoustrojowych oraz stymulujących wzrost kukurydzy. **Przedstawiona rozprawa doktorska zawiera zatem oryginalny i wartościowy zbiór danych oraz rezultaty badań, potwierdzające potencjał efektywnego wykorzystania nanocząstek syntetyzowanych przez grzyby z rodzaju *Fusarium* w ochronie i stymulacji wzrostu roślin.**

Wyniki badań przedstawione w dysertacji pozwoliły Doktorantce na sformułowanie trafnych wniosków wskazując, że grzyby z rodzaju *Fusarium* stanowią wydajny system biologicznej syntezy nanocząstek srebra i tlenku cynku, jednakże efekt ten zależy od szczepu oraz metody syntezy. Do bardzo wartościowych rezultatów zaliczam znalezienie stężenia nanocząstek tlenku cynku ($32 \mu\text{g ml}^{-1}$), które stymulowało wzrost kukurydzy nie powodując efektu toksycznego, bez wywoływania stresu oksydacyjnego czy obniżenia zawartości chlorofilu. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń naukowych i uzyskanych oryginalnych wyników badań mgr Joanna Trzcńska-Wencel sformułowała osiem trafnych wniosków, odpowiadających założonym celom rozprawy doktorskiej.

5. Pytania i uwagi dotyczące rozprawy doktorskiej

W części metodycznej Doktorantka scharakteryzowała materiał badawczy, jednakże nie opisała szczepów bakterii i grzybów zastosowanych w badaniach przeciwdrobnoustrojowych. Stąd nasuwa się pytanie, dotyczące pochodzenia tych izolatów mikroorganizmów, a także uzasadnienia wyboru tych właśnie gatunków/rodzajów bakterii i grzybów. Czy należą one do typowych fitopatogenów kukurydzy czy też są sprawcami chorób innych roślin, a może inne motywy kierowały wyborem tych właśnie mikroorganizmów?

Analiza wyników dotyczących wykorzystania bionanocząstek tlenku cynku pozwoliła Doktorantce na wykazanie stymulacji wzrostu kukurydzy bez efektu toksycznego. W związku z tym chciałabym zapytać czy zamierza Pani opatentować uzyskane osiągnięcie i wdrożyć je do praktyki? Czy znane są komercyjne biostymulatory na bazie nanocząstek syntetyzowanych z udziałem grzybów? Jaka jest przewaga praktycznego wykorzystania bionanocząstek w rolnictwie w stosunku do klasycznie pozyskiwanych nanocząstek oraz tradycyjnych środków produkcji? Jakie są trudności prawnego i praktycznego wykorzystania nanocząstek w rolnictwie?

Wysoko oceniam wartość merytoryczną recenzowanej rozprawy doktorskiej, a moje pytania mają charakter dyskusyjny, potwierdzający zainteresowanie tematem

dysertacji. Pragnę również podkreślić duży dotychczasowy dorobek naukowy Doktorantki (16 prac naukowych, IF 52,727, MNiSW 1460, H 6), przedstawiony w końcowej części przedstawionego opracowania.

6. Ocena końcowa

Dysertacja doktorska Pani mgr Joanny Trzcińskiej-Wencel jest opracowaniem wnoszącym istotny wkład w rozwój nanotechnologii, a w szczególności biosyntezy nanocząstek z udziałem grzybów, będących skutecznym narzędziem w kontroli drobnoustrojów i stymulacji wzrostu kukurydzy. Doktorantka wykazała się doskonałą znajomością problematyki rozprawy, opanowała szereg metod badawczych i analitycznych, a także wykazała się zdolnością do analizy i interpretacji wyników, oraz umiejętnością publikacji swoich osiągnięć naukowych.

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Trzcińskiej-Wencel spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie mgr Joanny Trzcińskiej-Wencel do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Joanny Trzcińskiej-Wencel ze względu na znaczący wkład w zakresie wiedzy o biosyntezie nanocząstek srebra i tlenku cynku z udziałem grzybów, potencjalnym zastosowaniu nanocząstek w stymulacji wzrostu roślin, przy jednoczesnym braku działania toksycznego na rośliny, oraz ich potencjalnym wykorzystaniu w kontroli fitopatogenów, biorąc pod uwagę aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą testowanych bionanocząstek, zastosowanie szerokiego i nowoczesnego warsztatu badawczego oraz bardzo dużą wartość naukową publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej i przeprowadzonych eksperymentów.

prof. dr hab. Magdalena Frąc

Lublin, 06.04.2025