

Dr hab. Barbara Łata, Dyscyplina: Rolnictwo i Ogrodnictwo
Instytut Nauk Ogrodniczych, Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa
Wydział Ogrodnictwa i Biotechnologii SGGW w Warszawie
ul. Nowoursynowska 159; 02-776 Warszawa

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. **Maryi Halki**

pt. „**Wpływ jodu mineralnego, jodosalicylanów i jodobenzoesanów na wybrane biochemiczne i molekularne mechanizmy zachodzące w roślinach pomidora (*Solanum lycopersicum* L.)**”

wykonanej w Katedrze Biologii Roślin i Biotechnologii pod kierunkiem pana dr hab. Sylwestra Smolenia, prof. UR w Krakowie we współpracy z promotorem pomocniczym panią dr inż. Małgorzatą Czernicką.

Informacje ogólne o Doktorantce

Doktorantka, mgr inż. Maryia Halka, ukończyła studia magisterskie na kierunku Biotechnologia, Wydziale Biotechnologii i Ogrodnictwa UR im. Hugona Kołłątaja w Krakowie w roku 2015 (temat pracy magisterskiej: Identyfikacja mikroorganizmów izolowanych z produktów pszczelich i ocena ich potencjału odkwaszającego).

Do ważniejszych aktywności o charakterze naukowym Kandydatki można wymienić realizację dwóch tematów badawczych w ramach projektu ‘Badania Młodych’ w roku 2017 i 2018, udział w grantie badawczym finansowanym przez NCN oraz dwóch badaniach zleconych [Grupa Azoty S.A. w Tarnowie (2016-2017) oraz Grupa Azoty S.A. w Puławach (2018-2019)]. Doktorantka odbyła 3-miesięczny staż w Niemczech w ramach programu ERASMUS (Unit of Plant Nutrition, Faculty of Agricultural Sciences and Landscape Architecture, University of Applied Sciences, Osnabrueck, Niemcy). Od lipca 2019 mgr inż. Maryia Halka jest zatrudniona w firmie Synthos Agro Sp. z o.o., Oświęcim, od lutego 2020 na stanowisku Specjalisty ds. Rejestracji Środków Ochrony Roślin. Z otrzymanych informacji wynika, że Kandydatka nie ubiegała się wcześniej o nadanie tytułu doktora, ani nie miała otwartego innego przewodu doktorskiego.

W dorobku naukowym, poza pracami składającymi się na rozprawę doktorską, pani mgr inż. Maryia Halka jest współautorem 4 publikacji naukowych oraz autorem bądź współautorem 17 doniesień konferencyjnych (krajowych i międzynarodowych), które miały miejsce w latach 2016-2019. W większości prace i doniesienia naukowe dotyczyły różnych kwestii związanych z biofortyfikacją jodem i/lub selenem różnych gatunków warzyw. Sumaryczna liczba cytowań

dla publikacji, których Doktorantka jest autorem bądź współautorem wynosi 32 (bez autocytowań 19) a H-indeks = 3 (Web of Science, 8.04.2020). To krótkie podsumowanie 4-letniego dorobku i aktywności Doktorantki jednoznacznie wskazuje na duże zaangażowanie w prace badawcze a aktywność jest dobrze udokumentowana publikacjami i doniesieniami naukowymi, w tym danymi naukometrycznymi, które obecnie są stosowane.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. „Wpływ jodu mineralnego, jodosalicylanów i jodobenzoatanów na wybrane biochemiczne i molekularne mechanizmy zachodzące w roślinach pomidora (*Solanum lycopersicum* L.)”

składa się z 5 oryginalnych artykułów naukowych, które ukazały się, lub zostały przygotowane do publikacji, w latach 2018 – 2020. Wyniki badań opublikowano w czasopismach o zasięgu międzynarodowym posiadających współczynnik wpływu tj.:

Publikacja nr 1: *Journal of Plant Growth Regulation* (IF₂₀₁₉ – 2,179): **Halka M.**, Smoleń S., Ledwożyw-Smoleń I., Sady W. 2019. Comparison of effects of potassium iodide and iodosalicylates on the antioxidant potential and iodine accumulation in young tomato plants. *online first*, doi.org/10.1007/s00344-019-09981-2.;

Publikacja nr 2 w procesie ewaluacji: *Folia Horticulturae* (IF₂₀₁₈: 0,532): **Halka M.**, Smoleń S., Ledwożyw-Smoleń I. 2019. Antioxidant potential and iodine accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings as the effect of the application of three different iodobenzoates.

Publikacja nr 3: *Physiologia Plantarum* (IF₂₀₁₈: 3,000): **Halka M.**, Klimek-Chodacka M., Smoleń S., Barański R., Ledwożyw-Smoleń I., Sady W. 2018. *Organic iodine supply affects tomato plants differently than inorganic iodine*. 164(3): 290–306. doi.org/10.1111/ppl.12733.

Publikacja nr 4: *Folia Horticulturae* (IF₂₀₁₈: 0,532): **Halka M.**, Smoleń S., Ledwożyw-Smoleń I., Sady W. 2019. Iodosalicylates and iodobenzoates supplied to tomato plants affect the antioxidative and sugar metabolism differently than potassium iodide. 31(2): 385–400. doi.org/ 10.2478/fhort-2019-0031

Publikacja nr 5: *Plant Physiology and Biochemistry* (IF₂₀₁₈ – 3,404): **Halka M.**, Smoleń S., Czernicka M., Klimek-Chodacka M., Pitala J., Tutaj K. 2019. Iodine biofortification thorough expression of HMT, SAMT and S3H genes in *Solanum lycopersicum* L. 144: 35–48. doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.09.028

Publikacja nr 2 w chwili recenzji miała status ‘do korekty’, w mojej opinii należało dołączyć pracę po korekcie, rozumiem jednak, że rozprawa doktorska, na którą składa się cykl publikacji

w formule czasowej studiów doktoranckich jest bardzo dużym wyzwaniem pod kątem dotrzymania terminów. *Sumaryczna liczba punktów prac wskazanych jako rozprawa wynosi zgodnie z rokiem wydania: 215, natomiast sumaryczny IF: 9,647.* Wszystkie publikacje mają charakter wielo-autorski, co świadczy, że podjęte badania miały charakter wielowątkowy, a doktorantka starała się rozwiązać problem w sposób kompleksowy, co zwykle wymaga współpracy i dyskusji wielu ekspertów w zakresie podjętej tematyki. Indywidualny wkład Doktorantki w powstanie publikacji wynosił od 35 (Publikacja 3) do 50 (publikacje 1, 4 i 5) - 55% (publikacja 2), co spełnia wymogi o jej wiodącym udziale zarówno na etapie realizacji badań, analizy wyników i fazy końcowej czyli procesie publikowania. We wszystkich artykułach doktorantka jest pierwszym autorem co dodatkowo potwierdza jej zaangażowanie i wzmacnia autorski wkład, nie tylko w badania, ale także przygotowanie publikacji. Współautorzy zadeklarowanych na rozprawę doktorską publikacji złożyli stosowne oświadczenia informując o wkładzie w ich powstanie. Spełniono zatem także niezbędne pod względem formalnym warunki do uznania wyników zawartych w publikacjach jako rozprawy doktorskiej mgr inż. Maryi Halki.

Do publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej dołączono opracowanie w języku polskim składające się z dziewięciu części (rozdziałów). Opracowanie rozpoczyna składający się z pięciu podrozdziałów 'Przegląd literatury' (1), gdzie na 24 stronach Doktorantka wprowadziła w problematykę związaną z przeprowadzonymi badaniami tj. zarys biogeochemii jodu w przyrodzie, funkcje jodu w organizmie człowieka i przyczyny jego deficytu w diecie, potencjalne źródła jodu oraz biofortyfikacja roślin jako alternatywna metoda w walce z niedoborem jodu. Kwas salicylowy w roślinie – funkcje i metabolizm stanowił ostatnie omówione tam zagadnienie. W tym rozdziale Doktorantka dobrze kreśli tło i przekonuje czytelnika do zasadności podjętego tematu badań oraz wskazuje elementy nowości w obszarze, którego badania dotyczą. Te aspekty znalazły się oczywiście we wprowadzeniach ('Introduction') poszczególnych publikacji. Biofortyfikacja jest innowacyjnym sposobem pozyskiwania żywności o podwyższonych walorach zdrowotnych i narzędziem w walce z często ukrytymi niedoborami pewnych składników. Żywność wzbogacona w składniki kluczowe dla prawidłowego funkcjonowania organizmu to dobra alternatywa dla suplementów czy leków. Stąd w ostatnich latach obserwujemy wzrost badań dotyczących wzbogacania żywności pochodzenia roślinnego w mikroskładniki, witaminy czy inne związki biologicznie czynne. Nadal jednak proces ten znajduje się na wczesnym etapie jeśli chodzi o rozmiar czy skalę wdrożeń. Biofortyfikacja może być realizowana poprzez włączenie technologii genetycznych (tradycyjna hodowla, inżynieria genetyczna) czy agrotechnicznych. W metodach

agrotechnicznych jak agrochemiczna biofortyfikacja zwiększenie zawartości składnika można uzyskać m. in. optymalizując czynniki wpływające na jego dostępność, ustalając odpowiedni zakres dawki, źródło/formę składnika i sposób aplikacji. Dysertacja pani mgr inż. M. Halki odnosi się m.in. do tych kwestii w kontekście jodu a wykorzystane w badaniach organiczne źródła jodu nie były dotychczas przedmiotem szczegółowych badań.

Temat podjęty przez Doktorantkę ma dobre uzasadnienie, a zakres podjętych badań ma charakter zarówno poznawczy jak i aplikacyjny.

Po wprowadzeniu do tematu badań Doktorantka definiuje cele i hipotezy badawcze (część 2 i 3 opracowania) do których będą się odnosić przy omawianiu prac. Ogólny, pomocny w analizie schemat przeprowadzonych badań przedstawiono w punkcie 4 na str. 27, w tabeli 1. Następnie Doktorantka zamieściła streszczenia pięciu publikacji, które stanowią rozprawę doktorską (rozdział 5) oraz dane niepublikowane uzupełniające wyniki przedstawione w publikacji 5, które dotyczą m.in. cech prozdrowotnych owoców pomidora jak zawartość likopenu, witaminy C czy cukrów, które mają być tematem kolejnej publikacji. Dyskusja, podsumowanie oraz spis piśmiennictwa stanowiły ostatnie części przygotowanego opracowania. Opracowanie poprzedza streszczenie w języku polskim i angielskim.

Analiza cyklu publikacji składających się na rozprawę doktorską, w kolejności przedstawionej przez Doktorantkę, i w mojej opinii stanowiących pewien logiczny i spójny ciąg prac badawczych nad zagadnieniem odzwierciedlającym temat pracy doktorskiej. Może pewnym zaskoczeniem było pominięcie w temacie kwestii akumulacji i dystrybucji jodu w roślinach pomidora, gdyż wątek ten był jednym z wiodących w pracy.

Wszystkie prace (publikacje) składające się na rozprawę doktorską mają układ typowy dla prac badawczych o charakterze przyrodniczym. Z czterech przeprowadzonych doświadczeń trzy przeprowadzono w dwóch seriach (po dwa cykle uprawy), co stanowi wystarczający materiał do weryfikacji zakładanych celów badawczych. Jak podano w publikacjach badania były finansowane ze środków NCN, jednak nie wiem dlaczego pominięto dane o projekcie (nr umowy, nr grantu). Pozyskanie źródeł na finansowanie badań jest także faktem potwierdzającym ich zasadność i znaczenie.

Stosowane w recenzji skróty (za doktorantką): BeA – kwas benzoesowy; 2-IBeA – kwas 2-jodobenzoesowy; 4-IBeA – kwas 4-jodobenzoesowy; 2,3,5-triIBeA – kwas 2,3,5-trijodobenzoesowy; SA – kwas salicylowy; 5-ISA – kwas 5-jodosalicylowy; 3,5-diISA – kwas 3,5-dijodosalicylowy;

Dwie pierwsze z wymienionych w wykazie publikacji prac (*“Comparison of effects of potassium iodide and iodosalicylates on the antioxidant potential and iodine accumulation in young tomato plants”* J Plant Growth Reg. 39:282–295(2020) oraz *„Antioxidant potential and iodine accumulation in tomato (Solanum lycopersicum L.) seedlings as the effect of the application of three different iodobenzoate.”* Folia Hort., in press) dotyczą dwóch doświadczeń o tym samym schemacie, które miały na celu zbadanie efektywności pobierania jodu zaaplikowanego w postaci organicznej (testowane związki to jodosalicylany: 5-ISA, 3,5-diISA oraz kwas salicylowy - praca 1 i jodobenzoesany: 2-IBeA, 4-IBeA, 2,3,5-triIBeA oraz kwas benzoesowy - praca 2) w relacji do KI (forma mineralna) jako potencjalne źródła jodu w procesie biofortyfikacji tym pierwiastkiem. Rośliną testową był pomidor (*Solanum lycopersicum* L.) odmiany Kmicic a badania przeprowadzono w fazie siewek w warunkach kontrolowanych. Badany zakres stężeń jodu wynosił od 5 do 50 μM , plus kombinacje kontrolne. Związki jodu aplikowano 5-krotnie. Wykonano 2 serie doświadczenia, przy czym na jedną kombinację składało się 16 roślin. Analizie poddano akumulację biomasy oraz zawartość jodu w liściach, pędach i korzeniach a także wybrane elementy aparatu antyoksydacyjnego (stan redox kwasu askorbinowego oraz aktywność enzymów: katalazy, peroksydazy askorbinianowej i gwajakolowej w liściach). Na podstawie uzyskanych wyników Autorka mogła ocenić akumulację i dystrybucję jodu w młodych roślinach pomidora jak i ich wrażliwość na suplementację jodem w zależności od jego formy i stężenia. Wyniki części eksperymentu były dość klarowne i dały jednoznaczne odpowiedzi na część pytań zawartych w celach pracy, mianowicie stężenie jodu w roślinach traktowanych istotnie wzrosło w porównaniu z kontrolą a w roślinach traktowanych rosło wraz ze zwiększaniem dawki jodu w pożywce. Zastosowana biofortyfikacja była zatem efektywna. Dystrybucja jodu w roślinach zależała od aplikowanego źródła jodu. Natomiast wyniki dotyczące relacji między aplikacją jodu a antyoksydantami były niejednoznaczne i trudne do interpretacji.

Doświadczenie 3 dotyczyło testowania wszystkich źródeł jodu wykorzystanych w doświadczeniu 1 i 2 z wyjątkiem 2,3,5-triIBeA w jednym, wytypowanym na podstawie prac wcześniejszych stężeniu tj. 25 μM I dla tej samej rośliny, ale w fazie późniejszego rozwoju roślin tj. w fazie rozsady. W czasie doświadczenia związki jodu aplikowano 7-krotnie w jednym cyklu uprawy. W doświadczeniu tym uszczegółowiono badania dotyczące jodu i jego dystrybucji oraz parametry powiązane ze wzrostem roślin (oznaczono zawartość suchej masy, wysokość, liczba i powierzchnia liści, wskaźnik LAI). Aktywność enzymów i stężenie związków bioaktywnych oceniano już nie tylko w liściach jak w doświadczeniu 1 i 2, ale także

w korzeniach. Do analizy włączono, znane z wysokiej aktywności antyoksydacyjnej, związki fenolowe (zawartość ogółem jak i wyodrębnione subgrupy). Ponadto w próbach liści przy zastosowaniu metody Real-Time qPCR wykonano analizę ekspresji genów, kodujących enzymy związane z metylacją (ulatananiem) jodu – *ang. halide ion methyltransferase* (HMT) oraz metabolizmem kwasu salicylowego – *ang. S-adenosyl-Lmethionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase* (SAMT) i *salicylic acid 3-hydroxylase* (S3H). Geny te są związane z mechanizmami obronnymi w reakcji na nadmierną akumulację jodu. **Wyniki doświadczenia 3 przedstawiono i skomentowano w kolejnych dwóch pracach** (“*Organic iodine supply affects tomato plants differently than inorganic iodine*, *Physiol. Plant.* 164(3): 290–30 oraz “*Iodosalicylates and iodobenzoates supplied to tomato plants affect the antioxidative and sugar metabolism differently than potassium iodide*” *Folia Horticulturae.* 31(2): 385–400).

Podsumowując część eksperymentalną dotyczącą fazy młodocianej roślin można stwierdzić, że schemat doświadczeń, analizowane wskaźniki i zastosowane metody były odpowiednie aby przetestować część z postawionych hipotez i celi badawczych. Analizowano wpływ kwasu salicylowego i dwóch jego pochodnych, kwasu benzoowego i trzech jego pochodnych oraz KI jako źródło jodu mineralnego na szereg ważnych, ze względu na procesy życiowe rośliny, wskaźników oraz efektywność pobierania i akumulowania jodu w zależności od fazy rozwojowej roślin, źródła jodu czy organu. W połączeniu z ilością poziomów na jakich wskaźniki analizowano oraz liczbą powtórzeń i serii można mówić o ambitnym przedsięwzięciu do realizacji. Wiązało się to także z bardzo dużą ilością danych do analizy, doborem sposobu analizy i prezentacji. Analizując poszczególne publikacje w mojej opinii Doktorantka w większości sprostała temu zadaniu. Powstał cykl prac stanowiących pewną całość, ale też nie ograniczonych do powtarzania schematu wyjściowego, pojawiały się zapewne kolejne pytania i stąd bardziej wnikliwe/szczegółowe podejście do problemu w kolejnym doświadczeniu. Nie mam zastrzeżeń odnośnie doboru i adekwatności co do meritum cytowanej literatury. Większość prac została opublikowana po roku 2000, wszystkie zacytowane w tekstach prace znalazły się w spisie piśmiennictwa. Lektura tych prac stanowiła dobrą bazę do dyskusji.

Choć prace i ich zawartość podlegała już wcześniejszej ocenie i zostały pozytywnie zaopiniowane, pozwolę sobie w tej części zwrócić uwagę na kilka kwestii, które wymagają refleksji, komentarza, czy uzupełniania pewnych szczegółów istotnych dla oceny pracy:

1. Czy podjęto próbę analizy wieloczynnikowej, na podstawie której byłaby możliwa ocena pewnych interakcji, a interpretacja niektórych wyników i wnioski łatwiejsze do zdefiniowania?
2. W jaki sposób pobierano i przygotowano próbki do analiz chemicznych antyoksydantów (askorbinianu, enzymów)? Czy 3-krotne mycie materiału roślinnego (dopiero w pracy 4 pojawia się taka informacja) mogło mieć wpływ na wyniki dotyczące aktywności enzymów, czy stanu redox askorbinianu?
3. Uzyskano dosyć niskie stężenie askorbinianu w liściach, mianowicie na poziomie stężenia w owocach, na ogół w liściach jego poziom jest wysoki, czy może to świadczyć o jego marginalnej roli w procesach obrony antyoksydacyjnej. Jak stężenie askorbinianu w liściach kształtuje się ilościowo w odniesieniu do wyników innych badań nad pomidorem czy innymi gatunkami (nie znalazłam odniesienia/porównania do innych prac w tym kontekście).
4. Uważa się, że lepszym wskaźnikiem ilustrującym 'zaangażowanie' związku w stres oksydacyjny jest nie tyle jego stężenie co zmiany stosunku np. formy zredukowanej do utlenionej, ewentualnie udział formy zredukowanej w całkowitej zawartości. Czy taki parametr był kalkulowany na jakimś etapie – czy mogłoby to ułatwić wnioskowanie?
5. Do jakiej konkluzji skłania się doktorantka, po analizie wybranych elementów aparatu antyoksydacyjnego, czy zastosowane związki jodu łagodzą czy generują stres oksydacyjny?
Uwagi ogólne:
6. W słowach kluczowych (praca 1) wymieniono stres oksydacyjny chociaż nie mierzono żadnego wskaźnika stresu oksydacyjnego, natomiast pominięto zupełnie np. oznaczane składniki;
7. Na stronie 3 (praca 1) w podrozdziale analiza roślin jest mowa o oznaczeniu w materiale świeżym pojemności/wydolności antyoksydacyjnej (antioxidant capacity) choć w tekście (wynikach) nie znalazłam żadnego z parametrów stosowanych do oznaczania tej cechy.
8. Opis metody oznaczania form askorbinianu. W mojej opinii, jeśli dobrze zrozumiałam procedurę, powinien być zapis o oznaczeniu formy zredukowanej i całkowitej askorbinianu, nie zaś zredukowanej i utlenionej. W pierwszym kroku oznaczono kwas L-askorbinowy, natomiast w drugim zredukowano formę utlenioną stosując DTT (nawiasem mówiąc to jest dithiothreitol nie ditihotreithol, pub. 2) i oznaczono całkowitą zawartość askorbinianu. Stężenie formy utlenionej skalkulowano na podstawie różnicy (metoda pośrednia). Obecny opis jest mylący. Prośba o komentarz.

9. Na jakim etapie i pod wpływem jakich przesłanek stwierdzono, że etanol w dosyć niewielkiej ilości może oddziaływać na wzrost i inne parametry i kombinacja kontrolna z etanolem powinna być monitorowana?

10. W komentarzu dotyczącym zawartości jodu (praca 2) Doktorantka stosuje jednostkę mg na 100 g s.m., natomiast na Wyk. 2 i Tab. S1 w przeliczeniu na kg, co stanowi jednak istotną różnicę.

Praca 2 w mojej opinii wymaga wielu korekt a dyskusja zawiera bardzo dużo powtórzeń dotyczących wyników, natomiast odniesienia do literatury są raczej oszczędne. W mojej opinii przyjęty sposób prezentacji rozdziałów ‘Wyniki’ i ‘Dyskusja’ we wszystkich pracach (w rozdziałach tematycznych) oraz ich zawartość (sposób dyskusji) mocno przemawiała za tym, aby je połączyć w rozdział ‘Wyniki i dyskusja’, można byłoby w ten sposób uniknąć powtórzeń, a tekst byłby bardziej zwarty i przyjazny dla czytelnika (szczególnie dot. pracy 2 i 4).

11. W pracy 3 w opisie metod mamy ‘*Content of phenolic compounds, phenylpropanoids, flavonols and anthocyanins*’ natomiast na wykresie 7 mamy ‘sum of flavonoids’ co nie jest dla mnie jednoznaczne.

12. W **pracy 4**, będącej kontynuacją opisu i dyskusji wyników uzyskanych i opracowanych dla tego samego doświadczenia (doświadczenia 3) są fragmenty niepotrzebnie powtórzone z pracy, która została opublikowana dużo wcześniej (praca 3) i można na taką pracę z powodzeniem się powołać (są to fragmenty z rozdz. ‘Plant material and treatments’, powtórzona tabela 1, czy nieco zmieniona fotografia roślin z różnych kombinacji). Moim zdaniem w pracy 4 był zbędny powrót do kwestii związanych ze wzrostem roślin – tolerancją na związki jodu, czy kwestią jego akumulacji. Zaproponowano wprowadzić inne wskaźniki, ale one jedynie potwierdzały znane już różnice w dystrybucji jodu w zależności od formy/źródła jodu i niekorzystnego wpływu na akumulację biomasy 3,5-diISA and 4-IBeA, a to skutkowało to wieloma powtórzeniami. Moim zdaniem w zupełności wystarczyłoby skupić się na nowo dodanych elementach i tych, które wcześniej oceniano na poziomie siewek, aby dokonać porównania.

12. Przy oznaczaniu kwasu askorbinowego w doświadczeniu opisanym w pracy 1 i 2 użyto 2g materiału roślinnego i 8 mL kwasu szczawiowego a kolejnym doświadczeniu (doświadczenie 3, praca 4) naważkę i ekstraktor zwiększono 10-krotnie. Czym było to podyktowane? W jaki sposób przeprowadzano homogenizację materiału roślinnego do poszczególnych analiz?

W pracy ostatniej (*Iodine biofortification thorough expression of HMT, SAMT and S3H genes in Solanum lycopersicum L.* Plant Physiol Biochem 144 (2019): 35–48) przedstawiono wyniki

badań na pobieraniem i akumulacją jodu (mineralnego i z form organicznych) oraz kontynuację oceny wybranych procesów biochemicznych i molekularnych w organach wegetatywnych i generatywnych roślin pomidora, na poziomie roślin dojrzałych. Taki był jeden z wiodących celów pracy, ale sformułowanie (ostatni fragment), którego użyła doktorantka definiując cele: „określenie możliwości pobierania organicznych związków jodu (jodosalicylanów oraz jodobenzoesanów) przez rośliny pomidora *Solanum lycopersicum* L. w różnych stadiach rozwoju: w fazie siewek, fazie uprawy rozsady (wzrostu wegetatywnego) oraz w okresie uprawy na miejscu stałym tj. od posadzenia do fazy owocowania” jest mylące, gdyż sugeruje więcej pomiarów niż faktycznie wykonano.

W doświadczeniu opisanym w ostatniej pracy mamy wyraźny aspekt aplikacyjny – ocena możliwości/efektywności wzbogacania w jod owoców pomidora, które mogą stać się znaczącym źródłem tego pierwiastka w diecie. Największą, a jednocześnie taką którą można uznać za bezpieczną, fortyfikację jodem w przypadku jego form organicznych był 2-IBeA i ta wydajność była porównywalna z mineralnym źródłem w postaci KI. Efekt biofortyfikacji jodem owoców pomidora przy stosowaniu pozostałych organicznych związków jodu był porównywalny, poza 2,3,5-triIBeA, który był akumulowany głównie w korzeniu. Co istotne, nie stwierdzono negatywnego wpływu stosowanych związków jodu na wzrost i rozwój roślin, choć jak podkreśla Autorka stosowane stężenie nie były wysokie. Doświadczenie czwarte, którego wyniki opisuje publikacja 5 było postawieniem przysłowiowej ‘kropki na i’, gdyż dotyczyło oceny po pełnym cyklu uprawy efektywności procesu wzbogacania w jod owoców pomidora połączone z oceną innych procesów, jednak tę ostatnią pracę zaliczam do trudnej lektury ze względów językowych, nieścisłości tekstu z tabelami i innych błędów technicznych.

Uwagi dotyczące publikacji piątej:

1. W opisie doświadczenia podano, że eksperyment powtórzono 2-krotnie, jednak niejasne jest w jakim konkretnie przedziale czasowym, czy w tym samym roku, czy kolejnych latach – to może mieć znaczenie w analizie wyników.

2. Ponadto w publikacji 5 jest sporo błędów technicznych wynikających być może z pośpiechu, czy opcji kopiowania. Poniżej przykłady:

Tytuł i zawartość Tabeli 1 są rozbieżne: w tabeli brakuje danych o masie korzeni jak sugeruje tytuł, a plon handlowy owoców pomidora podano 2-krotnie z tą samą jednostką przy różnych wartościach. Podobnie tytuł Tabeli 2 zawęża, że dane w tabeli dotyczą porównania składu chemicznego wierzby i roślin kontrolnych pomidora. Nie końca w sposób jasny dla mnie jest

opisana Tabela 3, czy ta tabela nie jest odzwierciedleniem Tabeli 2?. W tytule Wyk. 3 są błędne odniesienia do miejsc ilustrujących ekspresję poszczególnych genów (np. HMT to część A i B wykresu a nie A i D itd.). Akumulacja jodu przedstawiona na Fig. 6 – brakuje jednostki – w jaki sposób ta akumulacja została skalkulowana. Wewnątrz rysunku są objaśnienia/tytuły opatrzone gwiazdką, ale nie udało mi się dojść co one oznaczają.

3. Pojawia się szereg zdań wprowadzających w konfuzję, nie wiem czy to właśnie Autorka miała na myśli, poniżej przykłady:

Na str. 39: 'It is important that the content of all those compounds in willow bark was much higher in tomato leaves and fruits – even in the case of plants which during cultivation had been treated with SA, BeA and organoiodine compounds'.

Na str. 43 pojawia się zdanie: 'Enriching tomatoes in iodine can help reduce the problem of malnutrition in this plant'.

Na str. 43: 'We believe that the enrichment of iodine fertilisers with organic or mineral iodine in tomato cultivation can effectively reduce iodine malnutrition'.

Na str. 45: 'The highest content of organoiodine compounds was observed in plant roots, and the lowest– except for 5-ISA – in tomato fruits. W większym stopniu tym wyjątkiem było raczej traktowanie 2-IBeA, który rozpoczyna szereg związków jodu wymieniany dla owoców na rysunku 6.

Na str. 46 mamy 'In tomato roots, the highest SA content was observed after application of exogenous SA, and in leaves after the introduction of 2,3,5-triIBeA to the nutrient solution' podczas gdy w Tabeli 2 istotnie wyższą zawartość SA, w porównaniu gdzie związek ten zastosowano egzogenicznie, odnotowano po traktowaniu KIO_3 .

Ostatnia kwestia wymagająca komentarza doktorantki dotyczy testowanych związków jodu. W fazie siewek testowano kwas salicylowy i dwie jego pochodne oraz kwas benzoowy i 3 jego pochodne w relacji do KI. W kolejnym doświadczeniu (faza rozsady) znika traktowanie 2,3,5-triIBeA, ale pojawia w doświadczeniu ostatnim, przeprowadzonym do fazy umożliwiającej zbiór i ocenę owoców pomidora. Tylko w fazie roślin dojrzałych pojawia się natomiast KIO_3 . Dobrze byłoby dodać historię tych decyzji na poszczególnych etapach realizacji badań.

Podsumowując, z pewnością wyniki opisane i skomentowane w 5 artykułach naukowych są powiązane tematycznie i dostarczają wielu cennych informacji o pobieraniu i dystrybucji

różnych źródeł jodu w powiązaniu z procesami biochemicznymi i molekularnymi zachodzącymi pod jego wpływem.

Wśród najważniejszych osiągnięć czy wniosków płynących z badań przeprowadzonych przez doktorantkę zaliczyłabym:

- ✓ Zdefiniowanie efektywności biofortyfikacji dla siedmiu różnych form jodu i ocena możliwości ich wykorzystania przy wzbogacaniu w jod owoców pomidora, przy czym testowanie form organicznych jest pomysłem nowym.
- ✓ Szczegółową charakterystykę dystrybucji jodu w roślinach pomidora, w zależności od egzogennie stosowanego źródła jodu i na różnych etapach rozwoju roślin.
- ✓ Zwrócenie uwagi na fakt, że wrażliwość na egzogennie stosowany jod może zależeć od fazy rozwojowej roślin i budowy chemicznej cząsteczki zawierającej jod.

Powyższe informacje mogą mieć istotne znaczenie aplikacyjne nie tylko dla roślin pomidora.

- ✓ Opracowanie szczegółowej analizy składu chemicznego korzeni, liści i owoców pomidora dotyczących zawartości kwasu salicylowego i benzooesowego oraz ich pochodnych zawierających jod a testowanych w badaniach. Analiza porównawcza tych danych z korą wierzby.
- ✓ Egzogenne stosowanie związków jodu może modyfikować funkcjonowanie aparatu antyoksydacyjnego roślin, choć na tym etapie badań nie uzyskano jeszcze jednoznacznych wniosków co do kierunku działania.
- ✓ Prześledzenie metabolizmu jodu i SA z zastosowaniem technik molekularnych w różnych organach i fazach wzrostu roślin w kontekście mechanizmu detoksykacji roślin z nadmiaru jodu.

Dołączone pytania, czy uwagi w większości są bodźcem do konstruktywnej dyskusji, inne są zwróceniem uwagi jak dużym wyzwaniem jest przygotowanie publikacji naukowej przez badacza, ale także jaka jest rola recenzenta.

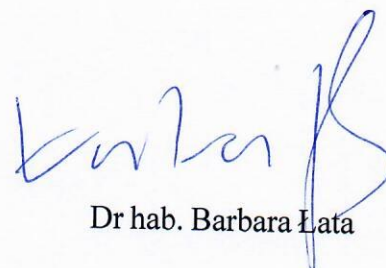
Podsumowując, oceniana rozprawa doktorska jest zbiorem publikacji zawierających wyniki, które wnoszą nowe informacje zarówno o charakterze poznawczym jak i aplikacyjnym i przyczyniają się do rozwoju badań w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Maryi Halki składająca się pięciu powiązanych tematycznie publikacji naukowych pod wspólnym tytułem „**Wpływ jodu mineralnego, jodosalicylanów i jodobenzoesanów na wybrane biochemiczne i molekularne mechanizmy zachodzące w roślinach pomidora (*Solanum lycopersicum* L.)**” ma charakter oryginalnej pracy twórczej i spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Wnioskuje do Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo o dopuszczenie pani mgr inż. Maryi Halki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 14 kwietnia 2020



Dr hab. Barbara Łata