



WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOSCI  
I ŻYWIENIU  
Katedra Biotechnologii  
i Mikrobiologii Żywności

Poznań, 10.06.2023 r.

**Prof. UPP dr hab. Daria Szymanowska**  
Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności  
Wydział Nauk o Żywieniu  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Kingi Marii Pilarskiej pt. Kultury *in vitro* roślin z rodzaju *Sarracenia* jako źródło związków biologicznie aktywnych wykonanej pod kierunkiem dr hab. Magdaleny Wróbel-Kwiatkowskiej, prof. uczelni oraz dr hab. Anny Kulmy, prof. uczelni w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Kingi Marii Pilarskiej ma postać obszernego opracowania liczącego 198 stron. Taką formę rozprawy dopuszcza znowelizowana Ustawa z 14 marca 2013 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

W ostatnim dziesięcioleciu obserwuje się widoczny trend zainteresowania świata nauki i biznesu nowymi związkami chemicznymi, zwłaszcza pochodzenia naturalnego jak i surowcami o niepoznanych dotąd właściwościach. Owo zainteresowanie dotyczy nie tylko branży farmaceutycznej ale również przemysłu spożywczego, paszowego jak i kosmetycznego. Ponadto trend tzw. zielonych technologii wynikający z przyjętej strategii zrównoważonego rozwoju zdaje się wpisywać w politykę coraz większej liczby polskich przedsiębiorstw. Jednak w kontekście potencjalnego sukcesu kluczowe są dwa aspekty. Pierwszy dotyczy poszukiwań innowacyjnego obiektu (w znaczeniu - mikroorganizmu, rośliny), który rokuje jako nowe źródło związków bioaktywnych, bądź stanowi je samo w sobie. Nie jest to zadanie łatwe, tym bardziej, że rynek jest mogłoby się wydawać jest przepełniony olbrzymią ilością surowców

pochodzenia naturalnego. Dlatego też poszukiwanie i wytypowanie atrakcyjnego źródła potencjalnego surowca jest bardzo istotne. Drugi aspekt to konieczność, a co się z tym wiąże umiejętność wykazania potencjału biofunkcjonalnego, właściwości nowego rozwiązania. Produkty dostępne na rynku w większości przypadków są opisane bardzo ogólnie a przedstawione informacje nie są oparte o dane literaturowe, a tylko w bardzo nielicznych przypadkach o wyniki badań naukowych. W nawiązaniu do powyżej wskazanego zapotrzebowania przedłożona mi do recenzji praca Pani mgr inż. Kingi Marii Pilarskiej merytorycznie doskonalone wpisuje się w oczekiwania dzisiejszego rynku.

### **Ocena formalna**

Przedłożona do recenzji praca stanowi jeden z efektów projektu „BioTechNan – Program Interdyscyplinarnych Środowiskowych Studiów Doktoranckich KNOW z obszaru Biotechnologii i Nanotechnologii”. Praca doktorska mgr inż. Kingi Marii Pilarskiej składa się z obszernego opracowania na które składają się następujące elementy: spis treści, wykaz skrótów, streszczenie, abstrakt, wstęp, cel pracy, opis zastosowanej metodologii, prezentacja wyników i (w osobnym rozdziale) ich dyskusja, wnioski końcowe, spis literatury i netografia, spis rycin, spis tabel i załączniki. W mojej opinii praca jest napisana poprawnym językiem polskim, prezentacja wyników jest czytelna, opis zaprezentowanych form graficznych jest prawidłowy podobnie jak cytowane pozycje literaturowe. Recenzentka nie ma uwag odnośnie struktury pracy i wskazuje, że spełnia ona zwyczajowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim.

### **Ocena merytoryczna**

Cześć teoretyczna w postaci przeglądu literatury obejmuje cztery rozdziały wraz z podrozdziałami które dotyczą charakterystyki roślin owadożernych, kultur *in vitro* roślin, korzeni włośnikowych i charakterystyki rośliny z gatunku *Sarracenia purpurea* jako obiektu badań biotechnologicznych. W rozdziale dotyczącym roślin owadożernych Doktorantka w bardzo czytelny sposób przedstawiała zagadnienia związane ze znaczeniem biofunkcjonalnym roślin owadożernych, scharakteryzowała metabolity wtórne tychże roślin wraz z charakterystyką rośliny należących do tej grupy jak np. *Sarracenia*. Następnie Autorka opisała zagadnienia związane ściśle z biotechnologią roślin, mianowicie z hodowlą roślin metodą *in vitro*, opisując techniki kultur *in vitro*, modyfikacje genetyczne roślin i aplikacyjny aspekt hodowli *in vitro*. Następnie poświęciła jeden rozdział w części teoretycznej na opisanie systemu korzeniowego roślin, ze szczególnym wskazaniem na bakterie je zasiedlające należące

do rodzaju *Rhizobium*, opisała również mechanizm agroinfekcji i praktyczne zastosowanie hodowli korzeni włośnikowych. W ostatnim, czwartym podrozdziale Pani magister scharakteryzowała roślinę z gatunku *Sarracenia purpurea* jako obiekt badań biotechnologicznych.

W mojej opinii przegląd literatury stanowi dobre wprowadzenie czytelnika w temat podjęty eksperymentalnie przez Doktorantkę i jest podparty rzetelnymi studiami literatury polskiej i światowej. Temat wykorzystania *Sarracenia purpurea* jako źródła surowca, w tym związków o potencjale funkcjonalnym jest tak interesujący, że można by stwierdzić, że przedstawione przez autorkę treści budzą wręcz pewnie niedosyt, co jednak okazuje się być konsekwencją po prostu braku danych literaturowych z tej tematyki. W tym miejscu wskazuję na konieczność publikacji uzyskanych wyników badań w renomowanych czasopismach międzynarodowych. Kolejny rozdział dotyczy opisu metodologii badawczej. Recenzentka jest pod dużym wrażeniem szerokiego spektrum metod zastosowanych przez Doktorantkę. Bardzo pozytywnie recenzentka odebrała fakt współpracy badawczej Doktorantki z innymi jednostkami naukowymi. Świadczy to o dojrzałości, komunikatywności i świadomości Pani magister, że z uwagi na stopień skomplikowania metod badawczych należy korzystać z doświadczenia innych naukowców a nie skupiać się tylko i wyłącznie na wypracowanym przez siebie warsztacie. Autorka w czasie realizacji części eksperymentalnej wykorzystwała klasyczne metody fizyko-chemiczne, metodę hodowli roślin *in vitro*, metody biologii molekularnej, metody chromatograficzne, metody mikrobiologiczne, badania na liniach komórkowych, co w kolejnym rozdziale pracy przekłada się na bardzo obszerny materiał wyników. Szczególną uwagę recenzenta zwróciła na wyniki badań dotyczących biofunkcjonalności otrzymanego surowca roślinnego. Doktorantka w pierwszej kolejności podjęła się optymalizacji ekstrakcji związków bioaktywnych w celu wytypowania warunków procesu pozwalających z jednej strony na efektywną ekstrakcję związków bioaktywnych, z drugiej zaś dobranie takich warunków, które umożliwią badanie właściwości prozdrowotnych ekstraktów. W mojej opinii jest to dobra strategia również w kontekście ich aplikacyjnego wykorzystania. Kolejnym etapem była ocena zmian zawartości takich związków jak triterpeny, chlorofil, karotenoidy, kwas betulinowy, kwasy tłuszczowe, składniki ściany komórkowej jak i oznaczenie pojemności antyoksydacyjnej, właściwości przeciwdrobnoustrojowych (w tym miejscu Recenzentka ma uwagę odnośnie poprawności prezentacji wyników w Tabeli nr 17 – nie jest poprawne podawanie strefy przejaśnienia w mm do drugiego miejsca po przecinku lub do trzeciego w

przypadku wartości odchylenia standardowego) dla natywnych linii roślin w porównaniu do linii otrzymanych w kulturach *in vitro*. Ten etap prac można uznać za badania przesiewowe, skringingowe, które ostatecznie pozwoliły na wytypowania dwóch linii (4#4 i 7#1) jako tych wykazujących największy potencjał funkcjonalny. Dla tych dwóch wariantów Doktorantka wykonała bardzo szczegółowe badania jak oznaczenie zawartości aminokwasów, oznaczenie zawartości związków fenolowych, cytotoksyczność i właściwości przeciwnowotworowe. Doktorantka zaobserwowała różnice pomiędzy liniami dzikimi w porównaniu do linii modyfikowanych. Wytlumaczenie przyczyny tych różnic w znacznej mierze wyjaśniła w dyskusji wyników. Moje pytanie w tym miejscu brzmi – czy Doktorantka ma wiedzę/potrafi przewidzieć czy wykazane cechy np. zwiększona zawartość triterpenów w częściach zielonych roślin linii 4#4, 7#1, 4#5 i 7#2 utrzyma się w kolejnych pokoleniach roślin, w których materiałem wyjściowym byłby materiał (eksplantat) pozyskany właśnie z tych linii? I na ile dana cecha (czyt. np. stężenie metabolitu) zostanie zachowana/”utrzyma” i na ile dany wynik jest/byłby powtarzalny?

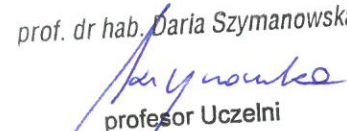
W mojej opinii na szczególną uwagę zasługuje interdyscyplinarny charakter pracy, szeroki warsztat badawczy i bardzo duży potencjał aplikacyjny efektów pracy doktorskiej. W kontekście ostatniego elementu, Recenzentka dostrzega bardzo szerokie możliwości wykorzystania rośliny zarówno w kontekście przedstawionych danych literaturowych ale przede wszystkim w odniesieniu do uzyskanych przez Doktorantkę wyników badań. Z rozeznania przeprowadzonego przez Recenzentkę nie ma na rynku polskim i zagranicznym suszy, ekstraktów, wyciągów z *Sarracenia purpurea*, co tym bardziej świadczy o możliwościach aplikacyjnego wykorzystania rośliny. W tym miejscu pojawiają się następujące pytania:

- jakie są możliwości hodowli *Sarracenia purpurea* na skalę przemysłową i jaki byłby koszt 100 g suszu? Tutaj prosiłabym o porównanie kosztów produkcji suszu z wykorzystaniem klasycznej metody hodowli VS metoda *in vitro*.
- w jakich branżach Doktorantka widziałaby możliwości wykorzystania surowca w postaci *Sarracenia purpurea*?
- czy wg najlepszej wiedzy Doktorantki roślina *Sarracenia purpurea* zawiera w swoim składzie jakieś substancje niepożądane, które mogłyby uniemożliwić aplikacyjne wykorzystanie rośliny?
- czy na podstawie własnych doświadczeń Doktorantka może wskazać słabe strony hodowli kultur *in vitro* na skalę przemysłową?

W mojej opinii w pracy brakuje, choć nie jest to wymagane zestawienia aktywności naukowej Doktorantki (publikacje, monografie, zgłoszenia patentowe, udział w konferencjach itp.).

Podsumowując, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Kingi Marii Pilarskiej z naddatkiem spełnia ustawowe i zwyczajowe wymagania stawiane tego typu pracom. Niewątpliwie stanowi ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, który sformułowany został na początku rozprawy. Doktorantka dowiodła, że potrafi zaplanować i wykorzystać wiele technik analitycznych, wspólnie ze swoimi opiekunami naukowymi, co w efekcie doprowadziło do przeprowadzenia badań i uzyskania wyników o istotnej wartości poznawczej i praktycznej. Upoważnia mnie to do przedstawienia wniosku o dopuszczenie Pani mgr inż. Kingi Marii Pilarskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy zaprezentowanych wyników, ponadprzeciętnie szeroki i zaawansowany warsztat analityczny, jak również potencjał aplikacyjny wyników, z pełnym przekonaniem wnioskuje o wyróżnienie przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

Daria Szymanowska

prof. dr hab. Daria Szymanowska  
  
profesor Uczelni