

Kraków, 2 grudnia 2024

Recenzja pracy doktorskiej

Environmental impact of ionic liquids with herbicidal activity

Pana mgr inż. Jana Jerzego Homy

wykonanej pod kierunkiem

Pana Prof. dr hab. Łukasza Chrzanowskiego (promotor)

Wydział Technologii Chemicznej

Politechnika Poznańska

i

Pana Prof. dr hab. Pawła Cyplika (pomocniczy)

Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Temat pracy to ciecze jonowe, związki o kontrolowanych właściwościach i niskiej lotności, aktywne biologicznie, o potencjale do zwalczania niepożądanych roślin. Bogactwo połączeń anionów herbicydowych z odpowiednim kationem, daje możliwość wykorzystania cieczy jonowych jako herbicydów (HIL, *herbicidal ionic liquids*, herbicydowe ciecze jonowe). HIL to alternatywa dla herbicydów stosowanych z adiuwantami, obniżającymi napięcie powierzchniowe wody, dzięki czemu herbicyd lepiej pokrywa opryskiwaną powierzchnię, a substancja aktywna preparatu chemicznego lepiej wnika do rośliny.

Ciecze jonowe są przedmiotem badań od lat, jednak wciąż wpływ na środowisko tych związków nie jest w pełni poznany. Zagadnienia dotyczące szeroko rozumianych zanieczyszczeń środowiska są w centrum zainteresowań naukowych promotora tej pracy, Pan Prof. Łukasz Chrzanowski i kierowanego przez niego zespołu. W pokrewnej tematyce specjalizuje się też drugi z promotorów, Pan Prof. Paweł Cyplik. Praca realizowana pod opieką dwóch tak znakomitych specjalistów z

zakresu monitorowania procesów degradacji związków szkodliwych dla środowiska, w świetnie wyposażonym laboratorium jest gwarancją wysokiej jakości badań, rzetelności analiz opartych na najnowszej wiedzy, z wykorzystaniem odpowiednich metod.

OGÓLNA OCENA ROZPRAWY

Praca napisana jest w języku angielskim, w formie monografii. Badania finansowane były z grantu OPUS15 NCN zatytułowanego *Bioaugmentation with herbicide degrading bacteria as a potential factor in spreading resistance to herbicides among plants* (domyślam się, że kierownikiem grantu jest Pana Prof. dr hab. Łukasz Chrzanowski). Efektem badań i podstawą rozprawy jest 7 publikacji, których Pan mgr inż. Homa jest współautorem.

Praca doktorska liczy 136 stron, podzielona jest na 9 rozdziałów, zawiera liczne rysunki i tabele. Rozpoczyna ją streszczenie w języku polskim i abstrakt w języku angielskim.

Część wstępna to wprowadzenie do nowoczesnego ogrodnictwa, opis cieczy jonowych, ich syntezy, stanu wiedzy w kontekście ich aktywności biologicznej, w tym chwastobójczej.

Rozdział zatytułowany *Cele pracy* otwiera graficzna ilustracja planu badań i ta grafika towarzyszy kolejnym częściom pracy by wskazać opisany tam etap badań. Wymienione cele powiązano z odpowiednimi hipotezami i sformułowano w czterech punktach, które można streścić jako oznaczenie aktywności biologicznej cieczy jonowych o działaniu herbicydowym, toksyczności dla drobnoustrojów, wpływu formy cieczy jonowej na biotransformację herbicydów przez mikroorganizmy oraz na obecność genów w środowisku.

Kolejne rozdziały to opis *Materiałów i metod*, oraz *Wyniki i dyskusja*. Opisano syntezę i charakterystykę cieczy jonowych o różnej długości łańcucha opartych na herbicydach MCPA/MCPP, ISM and Dic (skrótów wyjaśniono w pracy). Omówiono izolacje odpowiednich bakterii i grzybów pozyskanych z próbek środowiskowych. Przeprowadzono dokładną identyfikację wyizolowanych grzybów metodą NGS, walidując taksonomiczną klasyfikację poprzez amplifikację odpowiednich genów i ich sekwencjonowanie. W kolejnym kroku określono wpływ cieczy jonowych na modelową roślinę uprawną (kukurydzę) i modelowy chwast (chaber), oraz zbadano potencjał biodegradacyjny bakterii i grzybów. Finalnie sprawdzono wpływ HIL na mikrobiom roślin oraz zmienność genetyczną środowiska. Analizy analityczne prowadzono technikami HPLCC/MS, zaś genomyczne metodą PCR i NGS.

Poniżej opisuję wybrane wyniki, w mojej ocenie wnoszące istotny wkład w badania HIL.

Pokazano dwa znaczące trendy działania HIL w stosunku do kukurydzy, tj. stymulację wzrostową przy niskim stężeniu i inhibicję wzrostu przy wysokim stężeniu. Połączenie MCPA i MCPP w HIL, wykazujące korzystny efekt na kiełkowanie kukurydzy, pokazało wielofunkcyjność działania HIL. Ocena wpływu cieczy jonowych na kiełkowanie chabra wykazała, że ich skuteczność zależy zarówno od stężenia, jak i długości podstawnika alkilowego w kationie. Każdy z badanych HIL wykazał większą skuteczność w hamowaniu kiełkowania nasion chabra przy najniższym badanym stężeniu, ze zmiennymi efektami przy wyższych dawkach i bez zauważalnych trendów. Związki [MCPA-DAE-C12][MCPP] i [MCPA-DAE-C14][MCPP] wykazały podobny lub nawet wzmocniony efekt hamujący w porównaniu z modelową mieszaną MCPA i MCPP. Analiza długości korzeni i pędów u chabra wykazała, że skuteczne hamowanie wzrostu roślin przez HIL osiągnięto tylko przy najwyższym testowanym stężeniu. Przy najniższym stężeniu wpływ HIL był porównywalny z modelową mieszaniną herbicydów, podczas gdy przy średnich dawkach efekt hamujący syntetyzowanych związków był mniej wyraźny w porównaniu z modelową mieszaniną. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze obserwacje, że związki o łańcuchach alkilowych od C10 do C14 wykazują najwyższą aktywność herbicydową, przy czym dalszy wzrost długości łańcucha zmniejsza efekt toksyczny, ale wciąż efekt ten jest silnie zależny od dawki.

Pokazano, że skuteczność herbicydowa HIL jest ogólnie wyższa niż w przypadku produktów komercyjnych, a stosowanie w ich strukturze kationów powierzchniowo czynnych stwarza problem ich toksyczności dla środowiska. Surfaktanty kationowe nie wydają się powodować znaczących uszkodzeń roślin, co pozwala na ich stosowanie w rolnictwie i zminimalizowanie dawki składników aktywnych. Jednakże znacząco przyczyniają się one do zjawiska nabywania oporności przez mikroorganizmy na ksenobiotyki, co również wykazano w pracy.

Badania toksyczności pokazały, że to kation jest czynnikiem przyczyniającym się do wysokiej toksyczności w stosunku do bakterii, nawet przy niskich dawkach HIL. Jednocześnie badania z HIL opartymi na ISM wykazały, że toksyczność może wynikać z synergistycznej interakcji czwartorzędowych soli amonowych (QAS) i herbicydu.

Końcowe rozdziały to *Podsumowanie*, *Referencje*, *Spis rysunków i tabeli* oraz *Opis działalności naukowej* Doktoranta.

PODSUMOWANIE

Praca opiera się na 7 publikacjach, jako wynik badań finansowanych z grantu OPUS15 NCN, w których Pan Homa jest pierwszym autorem (3) lub jednym z kolejnych autorów (4). Pan Homa był w pełni zaangażowany w realizację badań w ramach grantu, który finansował również jego stypendium doktoranckie. Wszystkie publikacje są na liście JRC i mają wysoki współczynnik oddziaływania (*impact factor*, IF), sumarycznie ponad 44. Nie mam wątpliwości, że Doktorant w opisanych w pracy doktorskiej badaniach ma wiodącą rolę.

Praca doktorska została starannie zaplanowana, zrealizowana i opisana. Postawione na początku pracy hipotezy zostały pozytywnie zweryfikowane, a cele osiągnięte. Doktorant pokazał, że przekształcenie herbicydów w formy jonowe rzeczywiście zmniejszyło lotność składników aktywnych i udowodnił, że stosowane w takiej formie wykazują wysoką skuteczność przeciwko chwastom. Jednoznacznie wykazał, że długość łańcucha alkilowego kationu wpływa znacząco na toksyczność tych związków w stosunku do roślin. Pokazał, że HIL nie oferują nowych mechanizmów działania, co oznacza, że chwasty odporne na tradycyjne herbicydy będą również odporne na swoje pochodne HIL. Opisał, że związki należące do grupy QAS, stanowią poważne wyzwanie dla środowiska poprzez przewlekłą ekspozycję, w tym kwestie zależne od kationów związane z toksycznością dla organizmów niebędących celem, negatywnymi skutkami dla zdolności biomu do biodegradacji, istotnymi zmianami w samej strukturze mikrobiomu lub nawet zwiększonym poziomym transferu genów i rozprzestrzenianiem się oporności. Potwierdził, że te zjawiska są również spowodowane przez HIL. Skorelował strukturę chemiczną kationu w IL z ich działaniem toksycznym, tj. pokazał, że kation odgrywa krytyczną rolę w określaniu toksyczności ostrej i przewlekłej, a dłuższe łańcuchy alkilowe korelują ze zwiększonymi szkodliwymi efektami. Wszystkie związki zsyntezowane przez Doktoranta wykazały niską biodegradowalność, prawdopodobnie z powodu właściwości przeciwbakteryjnych surfaktantów kationowych. Pokazał, że bioróżnorodność pól uprawnych została negatywnie dotknięta przez długotrwałą ekspozycję na HIL i efekt ten był bardziej wyraźny niż w przypadku stosowania komercyjnych herbicydów. Wykazując obecność genów bakteryjnych zaangażowanych w degradację herbicydów w tkankach roślin zarówno podatnych, jak i odpornych zasugerował, że bakterie mogą pomagać roślinom w radzeniu sobie ze stresem wywołanym przez herbicydy. HIL mogą być bardziej toksyczne dla bakterii niż konwencjonalne herbicydy, przy czym prawdopodobnym czynnikiem przyczyniającym się do tego jest kation.

W świetle tego nasuwa się zasadnicze pytanie, czy *Doktorant ma pomysł na dalsze modyfikacje HIL? Czy będą one obejmować kation? Czy będą to modyfikacje długości łańcuchów alkilowych z jednoczesną kontrolą rozpuszczalności tych związków?*

Przedstawiona rozprawa Pana mgr. inż. Jana Jerzego Homy spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim. To kolejny krok w zrozumieniu właściwości cieczy jonowych, powiązania ich aktywności ze strukturą, wykazanie, że HIL mają określony i istotny wpływ na środowisko. Publikacje, na których opiera się rozprawa mają zasięg międzynarodowy, dodatkowo Doktorant brał czynny udział w licznych konferencjach naukowych aktywnie prezentując wyniki. Nie mam wątpliwości, że zarówno praca doktorska jak i dorobek naukowy Pana Homy zasługuje na wyróżnienie.

Podsumowując, uważam, że złożona rozprawa doktorska spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki z 14 marca 2003 (Dz.U. z 2017 r. poz.1789 z późn. Zmianami) w związku z art.179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz.1669) i wnioskuję o dopuszczenie Pana mgr inż. Jana Jerzego Homy do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę zakres przeprowadzonych badań, wagę uzyskanych wyników, kompleksową i dogłębną analizę, oraz imponujący dorobek naukowy Doktoranta, wnoszę o wyróżnienie pracy.*

H. Barański

