

Prof. dr hab. Hazem Kalaji
Katedra Fizjologii Roślin
Instytut Biologii
SGGW w Warszawie
e-mail: hazem@kalaji.pl

Warszawa, 20 sierpnia 2021 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Alicji Izabeli Aurigi pod tytułem

„Ocena oddziaływania preparatów EM i Tytanit® na kształtowanie się parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych wybranych roślin ogrodniczych”

Podstawą wykonania niniejszej recenzji było pismo p. prof. dr hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego, Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Przesłana do recenzji praca została wykonana na w/w wydziale pod kierunkiem dr hab. inż. Jacka Wróbla, prof. ZUT. Została ona przygotowana i przedstawiona do oceny na podstawie czterech artykułów, które stanowią integralną część rozprawy. Wszystkie te artykuły zostały opublikowane w czasopismach posiadających współczynnik wpływu (Impact Factor - IF). Są to następujące prace:

- Auriga A., Wróbel J. 2018. Effect of effective micro-organisms on the proline and MDA contents in herb plant material of *Ocimum basilicum* L. var. Piccolino. Fresenius Environmental Bulletin, vol. 27 (11): 7409-7415.

15 punktów MNiSW, IF: 0,691

- Auriga A., Ochmian I., Wróbel J., Oszmiański J. 2018. The influence of Effective Microorganisms and number of buds per cane in viticulture on chemical composition in fruits. Journal of Applied Botany and Food Quality, 91: 271 - 280.

25 punktów MNiSW, IF: 1,106

- Auriga A., Wróbel J., Ochmian I. 2020. Effect of Tytanit® on the physiological activity of wild strawberry (*Fragaria vesca* L.) grown in salinity conditions. Acta Universitatis Cibiniensis Series E: FOOD TECHNOLOGY, vol. XXIV(2): 279-288.

140 punktów MNiSW, IF: 2,000

- Auriga A., Wróbel J. 2021. Influence of Tytanit® and EM on biochemical, physiological, and qualitative parameters of common bean. Horticultural Science (Prague), 48(2): 98 – 104.



70 punktów MNiSW, IF: 0,925

Sumaryczny IF tych prac wynosi 4,722 a liczba punktów MNiSW to 250. Doktorantka we wszystkich pracach jest pierwszym autorem. Można więc stwierdzić, że jej udział w nich jest znaczący i upoważnia ją do wykorzystania ich jako podstawy do nadania stopnia doktora.

Treść pracy, jej cele, zastosowane metody, jak i sama jej konstrukcja są w pełni zgodne z wymaganiami stawianymi pracom doktorskim i przyjętymi zasadami stosowanymi w naukach ogrodnich. Tematyka pracy dotyczy możliwości łagodzenia oddziaływania stresów u roślin za pomocą tzw. biostymulatorów. Należy podkreślić, że tematyka pracy jest bardzo aktualna, gdyż zjawiska ekstremalne wywoływane zmianami klimatu potęgują występowanie stresów abiotycznych (takich jak susza, zasolenie czy niedobór składników pokarmowych) u roślin. Próba mitygowania tych oddziaływań metodami konwencjonalnymi prowadzi do dużego zużycia środków ochrony roślin i energii, co wiąże się nie tylko z obniżeniem jakości produktów rolnych, ale też z dużymi kosztami środowiskowymi. Jest to główny powód, dla którego podejmuje się prace nad możliwością wykorzystywania różnorodnych przyjaznych dla środowiska preparatów wspomagających produktywność roślin poprzez ich działanie ochronne, ale bez wspomnianych wyżej efektów ubocznych. Do takich substancji zalicza się biostymulatory i preparaty wzbogacone pożytecznymi mikroorganizmami. Należy więc uznać, że tematyka podjęta przez Doktorantkę jest nie tylko aktualna, ale ma też duże znaczenie uytylitarne.

W części „Przegląd literatury” przedstawiono problematykę występowania stresów u roślin w produkcji rolnej i ogrodnich. Dużo miejsca poświęcono na pełną charakterystykę dwóch rodzajów biostymulatorów, które mogą być wykorzystywane do ich ograniczania: Efektywne Mikroorganizmy™ oraz Tytanit®. Należy tu zauważyć, że dobór tych substancji nie był przypadkowy. Pierwszy z preparatów zalicza się do biostymulatorów mikrobiologicznych, natomiast drugi jest biostymulatorem niemikrobiologicznym. Doktorantka wykazała na podstawie przeglądu literatury, że zastosowanie biostymulatorów może skutecznie ograniczyć niekorzystne oddziaływanie czynników zewnętrznych. Wykazała też, że choć doniesienia naukowe potwierdzają pozytywne działanie tych środków, to uzyskanie zamierzonego celu (czyli wysokiej ilości i jakości plonu oraz ograniczenia

oddziaływania tej produkcji na środowisko) jest możliwe tylko przy właściwym doborze do rodzaju uprawy.

Doktorantka postawiła w pracy dwa cele. **Celem naukowym** pracy było określenie wpływu preparatów EM i Tytanit® na kształtowanie się niektórych parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych wybranych roślin ogrodniczych uprawianych w różnych warunkach siedliskowych. **Celem użytkowym** pracy było określenie przydatności badanych preparatów w uprawie wybranych gatunków roślin ogrodniczych, w aspekcie poprawy jakości plonów w zmiennym klimacie regionu północno zachodniej Polski. W opinii Recenzenta zarówno cel ogólny, jak i cel użytkowy zostały postawione prawidłowo. Po właściwie poprowadzonym „przeglądzie literatury” nie ma najmniejszych wątpliwości, że postawione w pracy cele są zasadne.

Na podstawie analizy problematyki badawczej sformułowano następującą hipotezę badawczą: „zastosowanie preparatów EM i Tytanit® w uprawie wybranych roślin ogrodniczych wpływa na poprawę ich procesów fizjologicznych i plonowania oraz na złagodzenie przebiegu reakcji stresowych wywołanych zasoleniem podłoża, co znajduje odzwierciedlenie w otrzymanych wartościach ich parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych”.

W tej części pracy przedstawiono także zakres pracy. Składa się on z czterech zadań, które obejmowały:

– analizę wpływu działania preparatu EM na biochemiczne parametry stresu oksydacyjnego, takie jak stężenie wolnej proliny i MDA w świeżych tkankach zielonych bazylii drobnolistnej (*Ocimum basilicum* L.) odmiana Piccolino;

– badanie wpływu EM na zawartość ekstraktu cukrowego, kwasowość i profil polifenoli w owocach dwóch odmian winorośli (*Vitis vinifera* L.) Regent i Cabernet Cortis prowadzonych na różną liczbę pędów, uprawianych w północno-zachodniej Polsce, a także analiza interakcji między badanymi czynnikami i ich wpływu na zawartość poszczególnych grup polifenoli;

– analizę wpływu preparatu Tytanit® na parametry fizjologiczne i biochemiczne: zawartość barwników asymilacyjnych, wydajność aparatu fotosyntetycznego poprzez zmierzenie potencjalnej aktywności fotochemicznej fotosystemu drugiego – PSII (Fv/Fm) i maksymalnej efektywności rozszczepienia wody po donorowej stronie PSII (Fv/Fo), stężenie

wolnej proliny oraz względną zawartość wody (RWC) w tkankach zielonych poziomki pospolitej (*Fragaria vesca* L.) odmiana Baron von Solemacher uprawianej w warunkach zasolenia;

– badanie wpływu oddziaływania preparatów EM i Tytanit® na parametry fizjologiczne, biochemiczne i jakościowe fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.) zielonostrąkowej, odmiany Jagusia. Badania obejmowały oznaczenie chlorofilu *a* i *b*, karotenoidów, proliny i MDA w liściach roślin oraz badania związane z plonem, tj. oznaczeniem średniej liczby strąków, ich świeżej i suchej masy, a także oznaczenia wybranych mikro i makroskładników.

W rozdziale „Materiał i metody” Doktorantka podaje informacje o pochodzeniu roślin wykorzystanych do badań i ich faza rozwoju. Należy zauważyć, że choć same warunki przeprowadzanych doświadczeń zostały precyzyjnie opisane, to niestety zabrakło informacji o protokołach wykonywania pomiarów. Tak jak we wstępie zabrakło informacji teoretycznych np. o zjawisku fluorescencji chlorofilu, tak w tej części zabrakło szczegółów jak te sygnały były mierzone. Nie można się więc dowiedzieć, jak długo liście przed pomiarem fluorescencji chlorofilu były adaptowane do ciemności, ani jakie było natężenie światła aktywnego indukującego to zjawisko. Informacje te nie zostały zawarte ani w autoreferacie, ani w opublikowanym materiale.

Należy podkreślić, że sam program badawczy jest bardzo szeroki. Obejmuje doświadczenia wazonowe prowadzone w hali wegetacyjnej oraz doświadczenia polowe w winnicy. Także różnorodność wykonywanych analiz była znaczna. Wykonywano oznaczenia parametrów biochemicznych: oznaczanie wolnej proliny, oznaczanie zawartości dwualdehydu malonowego (MDA) czy polifenoli. Oznaczono również niektóre parametry fizjologiczne np.: oznaczanie zawartości chlorofilu *a* i *b*, relatywnej zawartości wody w świeżej tkance roślinnej (RWC) czy ocena wydajności aparatu fotosyntetycznego roślin poprzez analizę fluorescencji chlorofilu. Analizowano też parametry jakościowe: oznaczenie zawartości ekstraktu cukrowego, oznaczenie kwasowości miareczkowanej, oznaczenie zawartości składników mineralnych (Na, Ca, K, Fe, Mn, Mg, P) techniką atomowej spektroskopii absorpcyjnej, określenie średniej liczby strąków z jednej rośliny, a także oznaczenie świeżej i suchej masy strąków fasoli (metodą wagową).

W rozdziale „Omówienie uzyskanych wyników” Doktorantka wykazała, że założony cel badań był konsekwentnie realizowany. Dołączona dokumentacja, którą Doktorantka prezentuje, jest starannie przygotowana, a stosowane w badaniach metody statystyczne są

prawidłowe. Ten rozdział rozprawy Doktorantka podzieliła na 4 podrozdziały, w których omawia wyniki 4 publikacji (które odpowiadają zadaniom składającym się na zakres pracy).

Podczas opracowywania tej części Doktorantka skupiła się na analizie wskaźników biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych. Doktorantka słusznie wyszła z założenia, że są to miarodajne wskaźniki w ocenie kondycji roślin ogrodniczych, rosnących w zróżnicowanych warunkach podłoża i poddanych oddziaływaniu biostymulatorów.

Pierwsza praca miała na celu określenie wpływu Efektywnych Mikroorganizmów (EM) na poziom wolnej proliny i MDA, jako wskaźników biochemicznych adekwatnych w ocenie aktywności biochemicznej i ogólnego stanu fizjologicznego badanych w różnych okresach vegetacji bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum* L.). Doktorantce udało się wykazać istotny wpływ zastosowania EM na zawartość wolnej proliny w materiale roślinnym bazylii. Stwierdzono także istotny wpływ terminu pomiaru na wielkość tego parametru. Celem drugiej pracy było zbadanie wpływu EM oraz liczby pędów na zawartość ekstraktu cukrowego, kwasowości i profil polifenoli w owocach dwóch odmian winorośli Regent i Cabernet Cortis. Przeprowadzono analizę interakcji między badanymi czynnikami i ich wpływu na zawartość poszczególnych grup polifenoli. Na podstawie otrzymanych wyników nie potwierdzono istotnego wpływu tych czynników (liczby pędów i stosowania EM) na zawartość ekstraktu ogólnego w owocach oraz ich kwasowość ogólną. Udało się natomiast potwierdzić, że Efektywne Mikroorganizmy miały znaczący wpływ na obniżenie zawartości polifenoli ogółem w owocach badanych odmian winogron. Stwierdzono też, że zastosowanie EM miało istotny wpływ na zawartość flawonoli i antocyjanów w owocach odmiany Regent. Zastosowanie EM u odmiany Cabernet Cortis spowodowało natomiast istotne obniżenie zawartości flawan-3-oli. W trzeciej pracy celem było określenie wpływu oraz skuteczności działania preparatu Tytanit® na aktywność fizjologiczną poziomki poddanej oddziaływaniu stresu solnego. W pierwszym terminie pomiaru nie odnotowano znaczącego wpływu Tytanitu na zawartość poszczególnych barwników asymilacyjnych. Natomiast w drugim terminie, rośliny poddane działaniu tego preparatu charakteryzowały się niższą zawartością chlorofilu *a*, *b* oraz karotenoidów. Zastosowanie tego preparatu obniżyło też stężenie proliny, ale tylko u młodych roślin. Rośliny traktowane Tytanitem miały istotnie wyższy wskaźnik Fv/Fm, niż rośliny uprawiane bez Tytanitu. Zastosowanie Tytanitu miało także wpływ na parametr Fv/Fo. Wątpliwości co do analizy parametrów fluorescencji może budzić fakt, że Doktorantka opisuje wyniki w terminach, natomiast w tabeli nr 3 (w autoreferacie), gdzie te wyniki są zestawione, nie ma terminów a jedynie stopień zasolenia (S1, S2 i S3), zastosowanie Tytanitu

(0 i T) oraz dwie fazy fenologiczne (BBCH15 i BBCH60). Podjęte badania miały na celu ocenę wpływu Efektywnych Mikroorganizmów oraz Tytanitu na aktywność fizjologiczną i biochemiczną oraz cechy jakościowe fasoli zwyczajnej w okresie jej wegetacji. Wykazano istotny wpływ badanych czynników na zawartość barwników asymilacyjnych w liściach fasoli. Zdaniem Doktorantki największy wpływ na zawartość chl *a*, chl *b* i karotenoidów oraz zawartość proliny i dialdehydu malonowego (MDA) w tkance roślinnej miał termin wykonania pomiaru, jednak zastosowanie obu preparatów także miało statystycznie istotny wpływ na te parametry. Analiza statystyczna nie wykazała jednak istotnego wpływu stosowania tych preparatów na liczbę strąków oraz ich świeżą i suchą masę.

Opisane powyżej wyniki zostały przez Doktorantkę podsumowane w postaci dobrze udokumentowanych 6 wniosków, które w pełni odpowiadają na postawione cele pracy. Przy sformułowaniu tych wniosków Doktorantka wykazała się zarówno krytycyzmem, jak i należyłą ostrożnością.

Autoreferat pracy doktorskiej **Pani mgr inż. Alicji Izabeli Aurigi** został pod względem edytorskim poprawnie i starannie opracowany, a pod względem formalnym i merytorycznym spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Jak nadmieniono we wstępie niniejszej recenzji - integralną częścią rozprawy są 4 artykuły, które zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach naukowych posiadających współczynnik wpływu (IF) i były recenzowane krytycznie przez specjalistów. W mojej ocenie przedstawiony do recenzji materiał pod względem formalnym i merytorycznym spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Alicji Izabeli Aurigi wnosi nowe elementy poznawcze i użyteczne wzbogacające wiedzę w zakresie możliwości mitygowania stresów oddziałujących na rośliny za pomocą biostymulatorów. Praca ta stanowi zamknięty cykl badawczy od koncepcji przez staranny dobór materiału roślinnego, właściwe metody oraz przedyskutowanie wyników własnych i ich konfrontację z poglądami innych autorów.

Uwagi krytyczne

1) W przeglądzie literatury (w autoreferacie) nie ma żadnych informacji o pomiarach fluorescencji chlorofilu czy zawartości chlorofilu jako metodach oceny stanu fizjologicznego. Podobnie nie ma informacji o pomiarach cech biochemicznych i jakościowych. W opinii recenzenta w przeglądzie powinien być zawarty jeden akapit z takimi informacjami.

 6

2) Nie zawarto charakterystyki gatunków roślin, na których przeprowadzono eksperymenty.

3) Doktorantka postawiła dwa cele: naukowy i użyteczny. Są one jak najbardziej dobrze sformułowane, można by się jednak pokusić o postawienie kilku celów szczegółowych.

4) Wątpliwości może budzić interpretacja wyników wpływu zastosowania Tytanitu na parametry fizjologiczne mierzone u roślin poziomki poddanej stresowi solnemu. Doktorantka w opisie zamieszcza informacje, że wpływ ujawniał się w zależności od terminu pomiaru, ale w tabeli nr 3 nie ma takich danych. Na podstawie tej analizy Doktorantka wnioskuje o fitotoksyczności preparatu Tytanit®. Z wnioskiem tym można się zgodzić tylko częściowo. Faktycznie pomiary zawartości chlorofilu (Tabela 2) mogą o tym świadczyć, ale już nie wyniki pomiarów fluorescencji chlorofilu (Tabela 3).

5) Zarówno w Rozprawie doktorskiej, jak i w poszczególnych artykułach analiza statystyczna danych opierała się o analizę wariancji (ANOVA), co było jak najbardziej słuszne pod względem wykazania oddziaływania zadanego czynnika na wielkość poszczególnych parametrów. Wykonana analiza statystyczna mogłaby być jednak rozszerzona o współczynnik korelacji pomiędzy poszczególnymi parametrami, co pozwoliło by na szerszą interpretację mechanizmów oddziaływania danych czynników na rośliny.

6) W tytułach wszystkich publikacji Doktorantka używa słów „effect” lub „influence”. Chciałbym podkreślić, że od dłuższego czasu w tytułach publikacji nie używa się takich zwrotów, a większy nacisk jest kładziony na wykazanie mechanizmu oddziaływania.

Konkluzja

Rozprawa doktorska **Pani mgr inż. Alicji Izabeli Aurigi** jest dojrzałym opracowaniem naukowym opartym o wieloaspektowe badania, w którym dane zebrano i opracowano przy zastosowaniu najnowszych metod. Praca ta posiada zarówno walory poznawcze, jak i praktyczne. Zebrany materiał i jego krytyczne omówienie dowodzą umiejętności Doktorantki w stosowaniu różnorodnych metod badawczych oraz metod statystycznych. Doktorantka wykazała się wiedzą merytoryczną i dobrą znajomością literatury fachowej przy sformułowaniu celów pracy i wniosków płynących z wykonanych doświadczeń. Nie ma wątpliwości, że Doktorantka jest zdolnym i samodzielnym pracownikiem naukowym, a badania przez nią wykonane są na poziomie nie odbiegającym od aktualnych standardów europejskich i światowych.



Praca doktorska **Pani mgr inż. Alicji Izabeli Aurigi** spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*. Mając na względzie moją pozytywną ocenę przedkładam **Dziekanowi Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie** wniosek o dopuszczenie **Pani mgr inż. Alicji Izabeli Aurigi** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 20 sierpnia 2021

Hazem Kalaji

