

prof. dr hab. Marek Gajewski
Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych
Instytut Nauk Ogrodniczych SGGW
ul. Nowoursynowska 166
02-787 Warszawa

Recenzja rozprawy doktorskiej

mgr inż. Pawła Michała Kiedosa

pt. **„Ocena możliwości wykorzystania przeciwdrobnoustrojowych właściwości lebiodki pospolitej (*Origanum vulgare* L.) w pozbiornym traktowaniu produktów ogrodniczych”**

wykonanej w ZUT pod kierunkiem dr hab. inż. Barbary Wójcik-Stopczyńskiej

Podstawa recenzji: zlecenie Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 21 kwietnia 2020 r.

Uwagi formalne

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Pawła Kiedosa ma charakter pracy eksperymentalnej i jej tematyka leży w zakresie nauk rolniczych, dyscypliny naukowej *Rolnictwo i ogrodnictwo*. Praca jest napisana w typowym układzie, przyjętym dla rozpraw doktorskich o charakterze eksperymentalnym, i ma formę manuskryptu. Tytuł pracy jest zgodny z zakresem badań będących przedmiotem rozprawy. Praca składa się z 7 rozdziałów oraz spisu piśmiennictwa i spisu materiałów ilustracyjnych, a także streszczenia w języku polskim oraz angielskim, i liczy ogółem 120 stron. We wstępie pracy Autor uzasadnia celowość podjętych badań. W rozdziale 2 - „Przegląd literatury”, zajmującym 20 stron tekstu, Autor prezentuje aktualny stan naszej wiedzy na temat charakterystyki botanicznej, chemicznej i użytkowej lebiodki pospolitej. Rozdział 3 precyzuje cele badawcze niniejszej pracy. W rozdziale 4 - „Materiał i metody badań”, Autor opisuje metody badawcze i zakres przeprowadzonych prac, a także sposób interpretacji wyników. Rozdział 5 - „Wyniki”, zajmuje 48 stron i zawiera 25 tabel, 8 rysunków w formie wykresów, 11 fotografii oraz obszerne omówienie przedstawionych danych z doświadczeń. W rozdziale 6, który liczy 17 stron, Autor zamieszcza dyskusję wyników. Wyniki doświadczeń są podstawą do wysnucia wniosków, w liczbie 13. Praca jest napisana poprawnym językiem, w sposób zwięzły, precyzyjny i klarowny, z użyciem słownictwa używanego w piśmiennictwie naukowym.

Uwagi ogólne

Głównym celem rozprawy doktorskiej mgr inż. Pawła Kiedosa jest ocena przeciwdrobnoustrojowej aktywności lebiodki pospolitej i możliwości wykorzystania tych właściwości w pozbiornym traktowaniu produktów ogrodnictwa. Badania z tym związane miały charakter kompleksowy, obejmujący, między innymi, analizę wpływu różnych czynników – genetycznych, uprawowych, środowiskowych na skład chemiczny lebiodki w aspekcie gromadzenia się i zawartości związków biologicznie aktywnych. Szeroko potraktowano również kwestie oddziaływania ekstraktów i ziela lebiodki na mikroorganizmy zasiedlające owoce i warzywa w czasie przechowywania oraz na trwałość pozbiorną kwiatów ciętych, na przykładzie kwiatostanów wyżłinu.

Odnosnie przedmiotu badań podjętych przez Doktoranta mogę stwierdzić, iż podjęta tematyka jest bardzo ważna zarówno z naukowego, jak i praktycznego punktu widzenia. Wykorzystanie roślin olejkowych, do których należy lebiodka pospolita, jest kierunkiem perspektywnym, pozwalającym na ograniczenie stosowania syntetycznych środków ochrony roślin i zastąpienie ich substancjami naturalnymi, bezpiecznymi dla człowieka i środowiska naturalnego. Trend ten jest obserwowalny w wielu krajach. Przechowywane świeże produkty roślinne – owoce, warzywa, kwiaty cięte, są narażone na atak patogennych grzybów i bakterii. Patogeny te powodują znaczne straty przechowywanych płodów, dlatego poszukiwanie innowacyjnych metod ochrony, uwzględniających metody produkcji zrównoważonej bądź ekologicznej, ma duże znaczenie ekonomiczne i społeczne. Logiczne jest więc, że w literaturze naukowej pojawia się w ostatnich latach coraz więcej doniesień na temat wykorzystania surowców zielarskich jako źródła substancji aktywnych biologicznie, które można byłoby wykorzystać jako środek przeciwko mikroorganizmom patogennym. Szczególne zainteresowanie budzą właśnie rośliny olejkowe, jako że olejki eteryczne wykazują bardzo często znaczną aktywność antygrzybową i antibakteryjną.

Pod względem wybranej tematyki, dotyczącej lebiodki, praca ma charakter nowatorski w skali nie tylko krajowej, ale także światowej. Badania Autora wnoszą tu wiele nowych informacji, związanych przede wszystkim z oceną składu chemicznego dwóch podgatunków lebiodki pospolitej, jak również zależności między wiekiem roślin, zmiennymi warunkami środowiska, wynikającymi ze zmienności sezonowej. Bardzo ciekawym i istotnym poznawczo aspektem pracy jest próba określenia aktywności olejków i ziela lebiodki obu podgatunków w hamowaniu rozwoju mikroorganizmów patogennych zarówno w *in vitro*, jak i *in vivo*. Praca mgr inż. Pawła Kiedosa przyczynia się do lepszego poznania dynamiki

gromadzenia się substancji aktywnych biologicznie w roślinach lebiodki oraz zróżnicowania pod tym względem między oboma podgatunkami, a także w szerokim zakresie właściwości przeciwdrobnoustrojowych surowca roślinnego i olejków z niego uzyskiwanych. Dzięki temu praca ma istotny aspekt praktyczny i pozwoli na wypracowanie zaleceń dla praktyki odnośnie możliwości wykorzystania olejku z lebiodki w przechowywalnictwie produktów ogrodniczych. Poniżej podaję uwagi szczegółowe do poszczególnych rozdziałów pracy.

Przegląd literatury

Przegląd literatury zamieszczony w pracy jest obszerny i odnosi się bezpośrednio do problematyki będących przedmiotem rozprawy. Literatura cytowana w pracy jest dobrana bardzo trafnie i obejmuje łącznie 164 pozycji. W przeważającej większości są to prace autorów zagranicznych. Przegląd literatury szeroko naświetla zwłaszcza kwestie gromadzenia związków olejkowych w roślinach lebiodki i ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Autor cytuje bardzo wiele prac autorów zagranicznych, ponieważ literatura krajowa jest w tym temacie stosunkowo uboga. Spis literatury zamieszczony na końcu rozprawy jest kompletny, cytowane źródła i ich tytuły podane są w sposób właściwy, w tym również skróty tytułów czasopism.

Materiał i Metody badań.

Rozdział w sposób wyczerpujący prezentuje zakres badań i metody badawcze stosowane przez Autora. Rozdział ten został opracowany bardzo starannie i przejrzysto. Materiał badawczy użyty w pracy stanowiły dwa podgatunki lebiodki pospolitej *Origanum vulgare* L. – ssp. *vulgare* i ssp. *hirtum*. Z zebranego surowca otrzymywano susz, wywar i olejek eteryczny. W badaniach aktywności przeciwgrzybowej wykorzystano 8 szczepów grzybów, typowych patogenów roślin ogrodniczych, a w badaniach aktywności przeciwbakteryjnej trzy szczepy bakterii. Wykorzystany w doświadczeniach przechowywalniczych świeży materiał roślinny stanowiły marchew i pietruszka (korzenie) dwóch odmian uprawnych, owoce pomidora, śliwy, truskawki i kwiatostany wyżłinu większego (lwiej paszczy). W doświadczeniach polowych z lebiodką, realizowanych w latach 2015-2018, badano podstawowe parametry plonu świeżego i suchego zieleń, w tym zwłaszcza aktywność przeciwutleniającą (standardową metodą DPPH*) oraz skład jakościowy olejków u obu podgatunków. Badano również aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybową *in vitro* dla roślin zebranych w różnym wieku, tj. jedno-, dwu- i trzyletnich. W badaniach tych stosowano standardowe metody używane w mikrobiologii – metodę dyfuzyjną krążkową,

rozcieńczeniową z mikropłytkami i metodę zatrutego podłoża. Badania mikrobiologiczne *in vivo* dotyczyły wpływu fumigacji olejkami ssp. *hirtum* na rozwój grzybów na sztucznie infekowanych korzeniach marchwi, śliwkach i pomidorach drobnoowocowych, a także wpływu olejku i wywaru ssp. *hirtum* na naturalną mikrobiotę przechowywanych korzeni marchwi i pietruszki. Osobne doświadczenie dotyczyło oceny wpływu olejku i wywaru z ssp. *hirtum* na trwałość pozbiorną ciętych kwiatostanów wyżłiny większego. Metodyka badań mikrobiologicznych została, moim zdaniem, dobrana bardzo trafnie i nie budzi żadnych zastrzeżeń merytorycznych. Badania chemiczne obejmowały szeroki zakres analiz, potrzebnych do zinterpretowania wyników badań mikrobiologicznych i oceny jakości lebiodki oraz użytych w doświadczeniach przechowalniczych warzyw i owoców. Metody badań chemicznych, w tym analiza składu ilościowego olejków z wyżłiny, zostały zostały dobrane właściwie. Do analizy składu jakościowego olejków została wykorzystana metoda chromatografii gazowej (GC).

Uzyskane wyniki badań opracowano w pracy w oparciu o odpowiednio dobrane metody analizy statystycznej. Większość wyników dotyczących doświadczeń polowych z lebiodką oraz badań mikrobiologicznych *in vitro* podano dla dwóch lat prowadzenia doświadczeń (oddzielnie dla poszczególnych lat oraz jako średnie z lat badań). Warto tu podkreślić, że Autor zadbał o prześledzenie również współdziałania czynników doświadczenia, podając wartości NIR dla współdziałania A/B i B/A.

Wyniki

Rozdział „Wyniki” ma układ bardzo logiczny, kolejność podrozdziałów wynika z planów prac doświadczalnych. Opis wyników jest bardzo rzeczowy i czytelny, mimo bardzo dużego zasobu prezentowanych danych liczbowych. Warto byłoby, moim zdaniem, aby w przyszłych publikacjach przynajmniej część wyników zaprezentować w formie graficznej, co ułatwiłoby rozeznanie się czytelnika w uzyskanych danych i uwypukliło obserwowane zależności i tendencje. Interpretacja wyników przez Autora nie budzi żadnych zastrzeżeń. Opis wyników poprowadzony jest w sposób wykazujący, że Autor ma bardzo dobrą orientację w przedmiocie badań i potrafi ogarnąć ogrom uzyskanych danych. Wyniki pracy stanowią ciekawy, bogaty i bardzo dobry materiał źródłowy do dalszych studiów nad wykorzystaniem lebiodki jako źródła substancji aktywnych mikrobiologicznie.

Mam w tym miejscu uwagę szczegółową, odnoszącą się do danych zawartych w Tabeli 7, prezentującej porównanie składu obu podgatunków lebiodki na podstawie średnich z lat badań. Z uwagi na zmienność sezonową składu chemicznego ziela lebiodki uważam, że

bardziej zasadne byłoby porównanie tego składu w każdym z lat doświadczeń. Średnie z lat zacierają w tej sytuacji występujące różnice w składzie chemicznym obu podgatunków lebiodki.

Odnosnie badań aktywności antyoksydacyjnej, moim zdaniem szkoda, że Autor nie pokusił się o przeliczenie wyników pomiaru aktywności antyoksydacyjnej na jednostki, w których można byłoby bezpośrednio porównać wyniki do wyników podawanych w literaturze dla innych produktów, na przykład w jednostkach „mg TE/100 g św.m.” (Trolox Equivalent). Przeliczenie takie można jednak dokonać wstecznie do celów publikacji, z wykorzystaniem stosownych krzywych kalibracyjnych.

Dyskusja

W rozdziale „Dyskusja” Autor odnosi się do uzyskanych wyników na tle informacji dostępnych w literaturze światowej, konfrontując wyniki własne z wynikami innych autorów. Dyskusja wyników w przedmiocie rozprawy napotyka niewątpliwie na spore trudności ze względu na szczupłość informacji w literaturze na temat aktywności mikrobiologicznej lebiodki oraz wykorzystania olejku z lebiodki do celu przedłużania trwałości owoców, warzyw i kwiatów ciętych. Moim zdaniem, Autorowi zabrakło nieco zdecydowania w interpretowaniu uzyskanych wyników dotyczących zróżnicowania składu chemicznego lebiodki w różnych latach badań. Autor mógł spróbować wytłumaczyć zjawisko silnego zróżnicowania składu chemicznego surowca w kolejnych sezonach badań i podać możliwe jego przyczyny, tym bardziej, że podaje podobne informacje cytując w dyskusji innych autorów.

Chciałbym tu zwrócić uwagę na następujące, szczególnie cenne i nowatorskie osiągnięcia badawcze Autora. W rozprawie wykazano, że badane oba podgatunki lebiodki pospolitej różnią się znacznie akumulacją różnych związków biologicznie aktywnych, w tym olejków, i należą do całkowicie różnych chemotypów. Interesujące, że wśród badanych olejków, u podgatunku ssp. *hirtum* największy udział miał karwakrol, a u podgatunku ssp. *vulgare* – germakren D. Wykazano przy tym, że bardzo duży wpływ na skład chemiczny ziela ma wiek roślin, a także warunki klimatyczne w sezonie uprawy. Nowatorskie, interesujące i wartościowe z punktu widzenia praktyki pozbiornej są wyniki badań nad wpływem olejku i wywaru z lebiodki na mikroorganizmy grzybowe i bakteryjne, w tym zarówno badania *in vitro*, jak też *in vivo*. Szczególne znaczenie dla praktyki mają badania *in vivo*. Wskazują one, że lebiodka pospolita może być źródłem substancji przydatnej ochronie roślin, zwłaszcza rośliny z podgatunku lebiodki ssp. *hirtum*. Chciałabym w związku z tym, aby Autor wyjaśnił

bliżej na obronie, jak widziałby w świetle posiadanych informacji możliwość wykorzystania w praktyce tych cennych właściwości badanego gatunku.

Wnioski

Wyciągnięte w pracy przez Autora wnioski, w liczbie aż 13, są dobrze udokumentowane i znajdują odzwierciedlenie w wynikach badań własnych. Autor potrafił prawidłowo wskazać na prawidłowości i zależności występujące w badanych procesach i zjawiskach zachodzących w materiale roślinnym i uzyskanych ekstraktach i wyciągach z surowca. W bieżącej redakcji manuskryptu większość wniosków ma jednak formę zbyt szczegółową, tj. formę przytoczenia uzyskanych w pracy wyników, z podanymi szczegółowymi danymi liczbowymi. W przyszłych publikacjach, pisanych na podstawie dysertacji, sugerowałbym nadanie wnioskom formy bardziej uogólniającej, a także połączenie niektórych wniosków ze sobą, aby zredukować ich liczbę.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Ogólnie oceniając przedstawioną pracę, mogę stwierdzić, że rozprawa mgr inż. Pawła Kiedosa napisana jest bardzo starannie pod względem merytorycznym, jak i redakcyjnym. Poza wyżej podanymi uwagami, mającymi w zasadzie charakter dyskusyjny, nie stwierdzam występowania w pracy istotnych uchybień. Poza tym, wskazane niewielkie wady nadają się do poprawienia lub uzupełnienia przy przygotowywaniu ewentualnych przyszłych publikacji. Na szczególne podkreślenie zasługuje nowatorska tematyka podjętych badań, przez co rozprawa ma charakter innowacyjny nawet w skali światowej. Warte podkreślenia jest też to, że Doktorant potrafił w pełni przeanalizować i zinterpretować bardzo obszerne i zróżnicowane, stąd trudne niekiedy do ogarnięcia, wyniki swoich badań.

Podsumowując niniejszą opinię, uważam że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Pawła Kiedosa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i całkowicie spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim, określone w Ustawie „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” z dnia 20 lipca 2018 r. W związku z powyższym, stawiam wniosek o dopuszczenie mgr inż. Pawła Kiedosa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. Marek Gajewski

Warszawa, 29.05.2020 r.