

Dr hab. Regina Dębicz, prof. UP we Wrocławiu

Wrocław, 16. 06. 2019

Katedra Ogrodnictwa

Wydział Przyrodniczo-Technologiczny

pl. Grunwaldzki 24 A, Wrocław

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Pauliny Kukli

pt. „Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na stan fizjologiczny i ukorzenianie sadzonek liściowych oraz plon cebul eukomis czubatej ‘Sparkling Burgundy’”

Praca wykonana pod kierunkiem dr. hab. inż. Piotra Żurawika w Katedrze Ogrodnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie

Do rodzaju *Eucomis* z rodziny szparagowatych Asparagaceae należy kilkanaście gatunków występujących w Południowej Afryce. Są to wieloletnie niezimujące w gruncie (w naszym klimacie) rośliny cebulowe o dekoracyjnych, oryginalnych, trwałych i okazałych kwiatostanach oraz owocostanach. W Polsce, poza *Eucomis bicolor*, są mało znane, choć mają szerokie zastosowanie. Nadają się na kwietniki, rabaty, kwiat cięty, do tworzenia grup ogrodowych oraz uprawy w pojemnikach. Mają też właściwości lecznicze, m.in. przeciwzapalne, antybakteryjne i przeciwgrzybiczne, dzięki czemu od dawna są stosowane w medycynie naturalnej, zwłaszcza w Afryce Południowej. Biorąc pod uwagę potencjał ogrodniczy i leczniczy gatunków *Eucomis* oraz fakt, że tworzą one mało cebul przybyszowych, Doktorantka podjęła nowatorskie badania dotyczące ich reprodukcji za pomocą sadzonek liściowych. Do badań wybrała *Eucomis comosa* ‘Sparkling Burgundy’. Odmianę tę rozmnażała w warunkach kontrolowanych (w komorze klimatyzowanej) i produkcyjnych w szklarni (w mnożarce i niskim tunelu foliowym) w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie w latach 2015-2018. W trzech przeprowadzonych doświadczeniach (zakładanych corocznie) Pani mgr Paulina Kukla oceniła wpływ kilku czynników agrotechnicznych na zdolność do tworzenia i rozwoju korzeni i cebul przybyszowych na odciętych liściach (sadzonych liściowych) *Eucomis comosa* ‘Sparkling Burgundy’ oraz ich wpływ na stan fizjologiczny sadzonek w czasie ich ukorzeniania. Stan ten

określono na podstawie parametrów indukcji fluorescencji chlorofilu *a* oraz indeksu zazielenienia sadzonek liściowych. Doktorantka w doświadczeniu pierwszym oceniła: ukorzeniacz Aqua B, barwę światła (białą, niebieską i czerwoną) oraz typ sadzonki (nasadowa i środkowa), w drugim: typ podłoża (torf, perlit, piasek, torf+perlit w proporcji 1:1 i torf+piasek w proporcji 1:1) i typ sadzonki (nasadowa, środkowa i wierzchołkowa) a w trzecim: masę cząsteczkową chitosanu (7000 i 10000 g mol⁻¹) i sposób aplikacji chitosanu (moczenie, podlewanie i oprysk). W doświadczeniu drugim i trzecim zbadała także wpływ trzeciego czynnika, jakim był termin pomiaru (trzeci i piąty miesiąc ukorzeniania), ale tylko na parametry indukcji fluorescencji chlorofilu *a*. W doświadczeniu pierwszym natomiast wpływ czynników doświadczenia na te parametry Doktorantka oceniła osobno w trzecim i piątym miesiącu ukorzeniania. Spośród wymienionych czynników badań szczególnie interesujące jest zastosowanie diod elektroluminescencyjnych LED emitujących światło o określonej długości fali, a także chitozanu – polisacharydu o właściwościach biostymulujących, które pozwalają intensyfikować i doskonalić technologię rozmnażanie roślin.

W wyniku realizacji tak szeroko zakrojonych badań agrotechnicznych Doktorantka wykazała, że rozmnażanie za pomocą sadzonek liściowych *Eucomis comosa* ‘Sparkling Burgundy’ jest skutecznym sposobem na otrzymanie znacznie większej liczby cebul przybyszowych w porównaniu do podstawowego sposobu rozmnażania roślin cebulowych, jakim jest oddzielenie cebul przybyszowych po zakończeniu wegetacji. W warunkach naturalnych oraz w tradycyjnej uprawie *Eucomis* tworzy 1-3 cebul przybyszowych. Tymczasem, jak udowodniła pani mgr Paulina Kukła, tylko z jednej sadzonki liściowej o długości 10 cm możliwe jest uzyskanie dodatkowo kilku cebul przybyszowych. A z jednej rośliny matecznej pobiera się 3 – 4 liści i sporządza 4 – 5 sadzonek liściowych. Taki więc sposób rozmnażania jest wydajny i pozwala na reprodukcję cebul *Eucomis* na większą skalę. Największy plon cebul przybyszowych, wyrażony liczbą cebul oraz ich masą i średnicą, uzyskano z sadzonek sporządzonych z części nasadowej liści, ukorzenianych w mieszaninie torfu i perlitu (1:1), moczonych w chitozanie (szczególnie o masie cząsteczkowej 7000 g mol⁻¹), traktowanych ukorzeniaczem Aqua B oraz doświetlanych białym światłem w komorze klimatyzowanej. Wymienione czynniki korzystnie wpłynęły także na rozwój korzeni przybyszowych (ich liczbę, długość i masę). Niektóre z nich (ukorzeniacz Aqua B oraz chitozan) pozytywnie oddziaływały także na indeks zazielenienia. Pani mgr Paulina Kukła zamieściła w pracy dla każdego doświadczenia wyniki pomiarów fluorescencji chlorofilu *a*

sadzonek liściowych, które przeprowadziła w trzecim i piątym miesiącu ukorzeniania. Zmierzyła następujące parametry fluorescencji Chl: T_{FM} – czas wzrostu fluorescencji chlorofilu od początku pomiaru do osiągnięcia maksimum (F_M), F_O – fluorescencja początkowa po adaptacji do ciemności, F_M – fluorescencja maksymalna po adaptacji do ciemności, $F_V = F_M - F_O$ – fluorescencja zmienna, F_V / F_M – maksymalna potencjalna efektywność reakcji fotochemicznej w PS II oraz PI – wskaźnik witalności systemu PS II. Fluorescencja chlorofilu *a* odzwierciedla aktywność aparatu fotosyntetycznego i jest miarą aktywności fotosyntetycznej. Analiza parametrów fluorescencji chlorofilu *a* pozwala ocenić aktywność fotosyntetyczną *in vivo* co jest szczególnie przydatne w sytuacjach oddziaływania na rośliny różnorodnych stresów środowiskowych, które powodują uszkodzenia w obrębie PSII.

Ocena formalna pracy

Rozprawa doktorska liczy 144 strony i ma układ typowy dla prac eksperymentalnych. Wyniki badań zaprezentowano w 46 tabelach i na 37 wykresach. Tabele i wykresy są czytelne. Dokumentacja fotograficzna jest bardzo bogata, obejmuje zdjęcia przedstawiające: cechy morfologiczne *Eucomis comosa* ‘Sparkling Burgundy’ (7 zdjęć), sporządzanie sadzonek liściowych, komorę klimatyzowaną (4 zdjęcia), ukorzeniające się sadzonki liściowe w szklarni (6 zdjęć) i w mnożarce (3 zdjęcia), a także sadzonki liściowe z wykształconymi korzeniami i cebulami przybyszowymi z trzech doświadczeń (32), odsetek zamartłych sadzonek (6), cebule po jednym sezonie wegetacyjnym (3), młode liście cebul przybyszowych (8), objawy zamierania sadzonek (2) i nieprawidłowe umieszczenie sadzonek w podłożu (3). Zdjęcia są bardzo dobrej jakości i ilustrują kolejno: zakładanie, prowadzenie i efekty doświadczeń. Tym samym jako uwiarygodniające wyniki badań zasługują na wyróżnienie. Zgromadzony materiał bibliograficzny jest bardzo obszerny, obejmuje 315 pozycji, z czego aż 75% stanowią prace w języku angielskim. Przytaczane pozycje bibliograficzne są aktualne i tematycznie związane z przedmiotem rozprawy doktorskiej. W przeważającej części (70%) zostały opublikowane w ostatnich dwóch dekadach. Literaturę uzupełniono o 4 źródła internetowe. Rozprawę kończy streszczenie w języku polskim i angielskim. Tu trzeba jednak zrobić uwagę, że w pracy pojawiają się błędy interpunkcyjne i językowe.

Ocena merytoryczna pracy

Problematyka podjęta przez panią mgr Paulinę Kukłę jest ważna i potrzebna zarówno z naukowego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Przedstawiona do recenzji rozprawa

doktorska zawiera obszerny materiał badawczy i jest od strony merytorycznej dobrze napisana. Kolejne zagadnienia: przegląd piśmiennictwa, opis metod badawczych, prezentacja wyników pomiarowych oraz ich analiza są przedstawione prawidłowo i świadczą o dobrym przygotowaniu naukowym Doktorantki. Postawione cele badawcze zostały sformułowane jednoznacznie i zrealizowane zgodnie z metodyką.

Należy docenić rozwój naukowy Doktorantki, która uczestniczyła w całym procesie badawczym, poczynwszy od założenia i prowadzenia doświadczeń w tunelu foliowym, szklarni i komorze klimatyzowanej, poprzez pomiary biometryczne oraz prowadzone za pomocą urządzeń pomiarowych, aż po wykonanie analizy uzyskanych wyników. Na uznanie zasługuje wybór metody oceniającej stan fizjologiczny sadzonek liściowych. Wykorzystanie spektrofluorymetru daje możliwość przewidywania wpływu czynników stresowych (w doświadczeniach Doktorantki- czynników agrotechnicznych) na proces fotosyntezy.

Przegląd literatury (13 stron) jest ściśle związany z charakterem prowadzonych badań. W pierwszym podrozdziale Autorka szczegółowo opisuje pochodzenie gatunków z rodzaju *Eucomis*, ich znaczenie i zastosowanie oraz charakteryzuje *Eucomis comosa* i jej odmianę Sparkling Burgundy. W drugim przedstawia rozmnażanie różnych gatunków roślin za pomocą sadzonek liściowych a w trzecim czynniki wpływające na ukorzenianie sadzonek liściowych.

W rozdziale „Materiał i metody” (8 stron) Doktorantka przedstawiła założenia metodyczne czterech doświadczeń. Jednego doświadczenia jednak nie zrealizowała, dlatego jego opisu nie należało zamieszczać w tej części pracy. W tytułach doświadczeń (w tym rozdziale oraz w rozdziale „Wyniki”) błędnie użyto słowa „inicjacja”, gdyż przecież nie przeprowadzono badań anatomicznych uwzględniających zapoczątkowanie rozwoju korzeni i cebul (podobna uwaga dotyczy 4. celu badań na str. 20.). Faktycznie badania dotyczyły rozwoju korzeni (liczby, długości i masy) i cebul (liczby, masy i średnicy) przybyszowych u podstawy sadzonek liściowych. Moje pewne wątpliwości odnoszą się do niektórych podłoży do ukorzeniania. W tabeli 2. na str. 22 zamieszczono charakterystykę podłoża torfowego, określanego jako „substrat torfowy” (czyli odkwaszonego i wzbogaconego w składniki pokarmowe torfu wysokiego), a nie torfu wysokiego, który jest kwaśny (pH: 2,8-4,5) i zawiera śladową ilość makroskładników. Powstaje pytanie, czy do ukorzeniania sadzonek użyto torfu wysokiego, a także torfu wysokiego wymieszanego z perlitem (w proporcji 1:1) oraz z piaskiem (w proporcji 1:1), czyli powszechnie stosowanych do tego celu podłoży, czy

podłoża torfowego (substratu torfowego) i podłoża torfowego w mieszaninie z perlitem, a także z piaskiem (w tych samych proporcjach). Z rozdziałów Wyniki i Dyskusja raczej wynika, że zastosowano torf wysoki i podłoża sporządzone z jego udziałem, choć z drugiej strony w różnych rozdziałach Autorka posługiwała się określeniem podłoże torfowe.

Można też sformułować następujące uwagi i sugestie:

- dokładniejszy opis cebul *Eucomis* z których pobierano liście do sporządzenia sadzonek należałoby umieścić w rozdziale 4.1, a nie w rozdziale Dyskusja na str. 102.

- w podrozdziale 4.2.1 pojawił się błąd we wzorze, powinno być $F_V = F_M - F_O$

- w podrozdziale 4.2.2.1 powinno być: „na sadzonki przeznaczono nasadową i (albo oraz) środkową część liścia”, a nie**lub** środkową.... Podobna usterka jest w podrozdziale 4.2.2.2. oraz 4.2.2.3 (...stosowano chitozan o masie cząsteczkowej 7000 oraz 10000., a nie **lub**) (lub to spójnik rozłączny)

- w podrozdziale 4.2.2.1 należałoby podać formę i skład zastosowanego ukorzeniacza (skład podano w rozdziale Dyskusja wyników na stronie 113),

- w szczegółowym opisie doświadczeń należałoby zamieścić informację, czy zastosowano cieniówki w okresie letnim w szklarni (informacja przydatna, np. do interpretacji wyników pomiarów fluorescencji Chl *a*).

Wyniki pracy przedstawiono na 72 stronach, z czego większość (40 stron) dotyczy pomiarów parametrów fluorescencji Chl *a*. Opisy wyników analiz statycznych przeprowadzonych badań są bardzo szczegółowe i pod względem merytorycznym nie budzą zastrzeżeń. Są interesujące i cenne dla nauki i praktyki. W opisie wyników odnoszących się do parametrów fluorescencji chlorofilu *a* należałoby różnice między analizowanymi wartościami wykazać procentowo, ułankowo lub stosując wielokrotność (np. dwa razy mniej dwa razy więcej).

W rozdziale Dyskusja (16 stron), Doktorantka uzyskane w doświadczeniach wyniki poddaje konfrontacji z pracami innych badaczy oraz dokonuje ich interpretacji. Dyskusja jest przeprowadzona właściwie, co świadczy o dobrej znajomości wątków badawczych. W rozdziale tym jednak zabrakło interpretacji wyników związanych z fluorescencją Chl *a*, a wyników było bardzo dużo (40 stron, 24 tabele i 24 wykresy). Przedstawiona analiza tych wyników jest zbyt powierzchowna. Ocena wpływu badanych czynników na parametry

fluorescencji jest niewątpliwie trudna ze względu na charakter doświadczeń (doświadczenia trzyczynnikowe) i bardzo skomplikowana, ponieważ rośliny charakteryzuje złożony mechanizm odporności i tolerancji na różne czynniki. Nie mniej jednak warto byłoby się podjąć bardziej pogłębionej interpretacji uzyskanych wyników, odnoszących się, np. do jednego lub dwóch mierników fluorescencji, np. tylko w doświadczeniu I (kontrolowane warunki).

Wnioski (jest ich 12) są uzasadnione merytorycznie i oddają najistotniejsze osiągnięcia pracy. Należałoby jednak niektóre z nich przeredagować ze względu na pewne nieprecyzyjne sformułowania. Na przykład z wniosku drugiego wynika, że ukorzeniacz Aqua B stosowano wielokrotnie w czasie ukorzenia sadzonek, z wniosku piątego - że cięcie sadzonek (czyli sama czynność) decyduje o....., natomiast w zrozumieniu wniosku siódmego przeszkadza zagmatwana składnia.

Lektura rozprawy nasunęła mi następujące pytania do jej Autorki:

1. Proszę wyjaśnić dlaczego polska nazwa *Eucomis comosa* - eukomis czubata - ma rodzaj żeński, a nie męski – eukomis czubaty.
2. Proszę spróbować wyjaśnić, co może oznaczać (w odniesieniu do stanu fizjologicznego sadzonek), że zastosowanie preparatu Aqua B miało wpływ na większą wartość parametrów: T_{FM} , F_V i F_V/F_M .
3. Proszę odpowiedzieć na wcześniej postawione pytanie dotyczące torfu jako podłoża do ukorzenia.

Inne uwagi

- strona 112, wers 4 oraz w spisie literatury podano nazwisko Bąblewski zamiast Bąbelewski,

-nieodmianianie nazwisk sugeruje, że chodzi o autora płci żeńskiej, dlatego, np. na str. 112, wers 2 powinno być : „Zdaniem Pacholczaka i in....(bo Andrzej Pacholczak), uwaga dotyczy także autorów o niepolskich nazwiskach.

Moje uwagi i wskazane uchybienia nie wpływają istotnie na wartość naukową ocenianej pracy.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że praca Pani mgr inż. Pauliny Kukli jest oryginalna. Wyniki badań są interesujące, mają dużą wartość poznawczą z zakresu rozmnażania *Eucomis comosa*, posiadają cechy nowości i niewątpliwie są cenne zarówno z naukowego, jak i praktycznego punktu widzenia. Wobec powyższego stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa pt. „Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na stan fizjologiczny i ukorzenianie sadzonek liściowych oraz plon cebul eukomis czubatej ‘Sparkling Burgundy’ spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr65, poz.595, z dnia 16 kwietnia 2003, z późn. zm.) i wnoszę do Rady Wydziału Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, 16.06.2019



dr hab. Regina Dębicz, prof. UP we Wrocławiu