



АГРАРЕН УНИВЕРСИТЕТ - ПЛОВДИВ

4000 Пловдив, ул. "Менделеев" 12, тел. (032) 654 326, факс (032) 654 322

AGRICULTURAL UNIVERSITY - PLOVDIV

12 Mendeleev str., 4000 Plovdiv, Bulgaria, tel.+359(32) 654 326 fax +359(32) 654 322

Prof. dr Małgorzata Mojecka-Berova
Uniwersytet Rolniczy w Pławdiwie
Katedra Fizjologii Roślin, Biochemii i Genetyki

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Marty Rokosy
pt. „Wpływ niedoboru wody na stan fizjologiczny wybranych
gatunków z rodzaju *Fragaria* w uprawie wazonowej,
hydroponicznej i w kulturach *in vitro*”**

Opis formalny rozprawy

Niniejsza recenzja została opracowana w odpowiedzi na pismo Pana prof. dr hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego, Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 07 lipca 2022 r. (WKŚiR-RD RiO/286/2022).

Promotorem rozprawy jest Pani dr hab. inż. Małgorzata Mikiciuk, prof. ZUT. Praca doktorska została wykonana w dyscyplinie naukowej *ogrodnictwo*.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska obejmuje w swej części merytorycznej wstęp, cztery rozdziały oraz zakończenie i jest zawarta na 124 stronach. W tekst wkomponowane są 113 tabele, 23 wykresy i 4 fotografie własne. Pracę podsumowują 4 wnioski. Część uzupełniającą stanowi bibliografia obejmująca 197 pozycje piśmiennictwa, w tym 158 pozycji obcojęzycznych. Przedstawiona literatura została dobrana prawidłowo i merytorycznie wiąże się z analizowanym tematem. W części uzupełniającej Doktorantka przedstawia również 6 tabel, które odzwierciedlają zawartość wybranych pierwiastków w roślinach badanych gatunków i genotypów (odmian) oraz „Streszczenie” rozprawy doktorskiej w języku polskim i „Abstract” w języku angielskim.

Całość dysertacji, obejmująca właściwą część merytoryczną oraz część uzupełniającą mieści się na 159 stronach.

Przedmiot rozprawy i znaczenie podjętych badań

Podjęta w rozprawie doktorskiej tematyka, dotycząca określenia wpływu niedoboru wody na stan fizjologiczny wybranych gatunków z rodzaju *Fragaria* stanowi aktualny problem badawczy, zarówno z punktu widzenia nauki, jak i praktyki ogrodniczej.

Wydajność upraw często jest determinowana niekorzystnymi czynnikami abiotycznymi lub biotycznymi, które zmniejszają wielkość i jakość plonu. Jednym z ważniejszych stresów środowiskowych ograniczających wzrost i rozwój roślin jest niedobór wody. Stres ten powoduje bezpośrednio lub pośrednio zakłócenia w prawie wszystkich procesach fizjologicznych - gospodarce wodnej, odżywianiu mineralnym, fotosyntezie, wzroście i innych. Rośliny są bardzo wrażliwe na stres wodny w okresie rozmnażania, zwłaszcza podczas tworzenia gamet i w początkowych stadiach powstawania nasion i owoców. Widocznym efektem negatywnych skutków jest zmniejszenie plonu upraw i pogorszenie jego jakości.

W ostatnich dziesięcioleciach poczyniono liczne postępy w badaniach dotyczących mechanizmów adaptacji roślin do stresu wodnego, ale nadal są poszukiwane wiarygodne metody przewidywania i oceny wpływu tego stresora na ich stan fizjologiczny. Równocześnie warto jest podkreślić, że w literaturze niewiele jest informacji dotyczących badań, w których jednocześnie są porównywane cechy fizjologiczne genotypów, pozyskanych różnymi metodami rozmnażania.

Uważam, że wykorzystanie roślin z rodzaju *Fragaria* jako modelu badawczego jest w pełni uzasadnione. Wynika to z kilku przyczyn:

- mają one krótki okres wegetacji oraz jasno określony cykl wzrostu wegetatywnego i sezonowego kwitnienia. Pozwoliło to Doktorantce na zastosowanie różnych metod rozmnażania w zróżnicowanych typach doświadczeń;

- są one wymagające pod względem zaopatrzenia w wodę i jej niedobór prowadzi do widocznych fizjologicznych i biochemicznych zmian w organizmie roślinnym;

- ich owoce posiadają duże znaczenie gospodarcze w Polsce i na świecie, tak więc otrzymane wyniki badań mogą być przydatne w praktyce ogrodniczej.

Z tego względu uważam, że badanie roślin z rodzaju *Fragaria* wnosi przydatne informacje zarówno w sferze nauki, jak i dla praktyki ogrodniczej w celu określenia stopnia adaptacji różnych gatunków i odmian do ograniczonej dostępności wody.

Biorąc pod uwagę powyższe, wybór tematu rozprawy doktorskiej przez mgr inż. Martę Rokosę uznaję za właściwy i jednocześnie pragnę podkreślić jego aktualność.

Cel pracy

Celem rozprawy była ocena wpływu niedoboru wody na stan fizjologiczny wybranych gatunków z rodzaju *Fragaria*. Równocześnie porównano cechy fizjologiczne genotypów z rodzaju *Fragaria* (zarówno gatunków jak i odmian) oraz roślin pozyskanych różnymi metodami rozmnażania uprawianych w warunkach optymalnego uwilgotnienia podłoża.

Szczegółowa lektura rozprawy mgr inż. Marty Rokosy upoważnia do stwierdzenia, iż cel pracy dobrze koresponduje z tytułem rozprawy doktorskiej i zakresem przeprowadzonych badań. Jednocześnie określił on strukturę rozprawy, a Doktorantka przedstawiając i analizując uzyskane w trakcie badań wyniki, konsekwentnie dążyła do jego realizacji.

Układ rozprawy

Układ rozprawy można określić jako klasyczny, tj. z wyodrębnionym przeglądem literatury, opisem materiału doświadczalnego i metod badań, wynikami, dyskusją i wnioskami. Treść pracy jest zgodna z tytułem, a kolejne rozdziały opatrzone są nagłówkami. Uzyskane w trakcie badań wyniki zostały dobrze udokumentowane i opracowane statystycznie. Stosowana w pracy terminologia jest zgodna z układem SI.

We wstępie Doktorantka wprowadza czytelnika w poruszaną problematykę. Uzasadnia konieczność uzupełnienia informacji odnośnie odporności roślin z rodzaju *Fragaria* na niedobór wody. Zwraca uwagę na możliwość zastosowania wybranych wskaźników dla wyjaśnienia fizjologiczno-biochemicznych mechanizmów adaptacji różnych genotypów do stresu wodnego.

W przeglądzie literatury Doktorantka przedstawia problem niedoboru wody w ujęciu globalnym oraz zwraca uwagę na ogromne straty w sektorze rolniczym spowodowane suszą. W dalszej części tego rozdziału analizuje molekularne i fizjologiczne skutki suszy glebowej dla roślin. Przedstawia szczegółowo opis botaniczny rodzaju *Fragaria* i omawia wartość biologiczną roślin, podkreślając

ich właściwości lecznicze. W zakończeniu rozdziału Doktorantka opisuje badania innych autorów nad wrażliwością roślin z rodzaju *Fragaria* na niedobór wody.

Zaleciłabym rozdział „1.2. Molekularne i fizjologiczne skutki suszy glebowej dla roślin” rozdzielić na podrozdziały (np.: „Skutki deficytu wody na poziomie komórkowym”; „Reakcja na niedobór wody na poziomie rośliny”). Wówczas przedstawiona informacja dotycząca badań wielu autorów byłaby bardziej jasna i klarowna dla czytelnika tego rozdziału.

W kolejnej części rozprawy „Materiał i metody badań” przedstawiono wykorzystany w doświadczeniach materiał badawczy oraz omówiono zastosowane metody badań. Przyjęta przez Doktorantkę metodologia jest odpowiednia do realizacji sformułowanego celu.

Badania przeprowadzono na roślinach z rodzaju *Fragaria*: *Fragaria virginiana* Mill., *Fragaria chiloensis* (L.) oraz *Fragaria vesca* L.. W doświadczeniach wykorzystano również dwie odmiany uprawne *F. vesca*: „Rugia” i „Baron von Solemacher”, a także poziomkę pozyskaną ze środowiska naturalnego.

Metodyka badawcza obejmowała **doświadczenie wazonowe** prowadzone na terenie hali wegetacyjnej Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, **doświadczenie hydroponiczne** oraz **doświadczenie *in vitro*** – prowadzone było w fitotronie Katedry Fizjologii Roślin i Biochemii (obecnie Katedra Bioinżynierii).

Uważam, że metody badawcze zostały przez Doktorantkę właściwie dobrane i zastosowane. Analizowane wskaźniki są ze sobą powiązane i pozwoliły na uzyskanie wiarygodnych wyników badań. Należy podkreślić, że do przeprowadzenia niektórych badań wykorzystano nowoczesną aparaturę analityczną:

- przenośny analizator wymiany gazowej roślin typu TPS-2 z kamerą PLC-4 (PP Systems, USA),
- spektrofluorometr Handy PEA (Hansatech Ltd. Kings Lynn, UK) – do pomiaru parametrów fluorescencji chlorofilu „a”,
- spektrofotometr serii iCE 3000 (ThermoScientific, Waltham, Massachusetts, USA) – do pomiaru zawartości makro- i mikroelementów w tkance roślinnej.

Wykorzystane w doświadczeniach metody badawcze są bardzo precyzyjnie opisane.

W doświadczeniu wazonowym w czasie wegetacji dwukrotnie wzbogacano podłoże nawozem wieloskładnikowym, przeznaczonym do uprawy truskawki. Nasuwa się pytanie czy przeprowadzono analizę chemiczną prób glebowych do ustalenia dawki nawozowej zaaplikowanej roślinom? Badanie zawartości składników mineralnych w podłożu przed i po zakończeniu doświadczenia dałoby dodatkową informację odnośnie odżywiania roślin.

Zwykle proces mikrorozmnażania (podrozdział 2.2.3) obejmuje następujące etapy: 1. Założenie kultury – inicjacja; 2. Namnażanie – rozmnażanie klonalne; 3. Przygotowanie do warunków *in vitro* - ukorzenianie pędów; 4. Przeniesienie do warunków *in vivo* i aklimatyzacja. Doktorantka powinna dostosować się do tej terminologii i określić, na którym ze wskazanych etapów przeprowadzono badanie wpływu deficytu wody na rośliny.

Wysoko oceniam wykorzystanie wykresów radarowych do interpretacji otrzymanych rezultatów.

Wyniki przeprowadzonych badań (omówione w rozdziale 3) mają na celu sprawdzenie hipotez badawczych przedstawionych w rozdziale „Wstęp” rozprawy doktorskiej. Są one poparte analizą statystyczną.

Wykazano, że genotypy z rodzaju *Fragaria* (zarówno gatunki, jak i odmiany) oraz rośliny pozyskane różnymi metodami rozmnażania (z sadzonek zielnych oraz metodą *in vitro*), różniły się między sobą cechami fizjologicznymi, przy czym w warunkach optymalnego uwilgotnienia podłoża, różnice te były związane z rodzajem doświadczenia (wazonowe, hydroponiczne lub w kulturach *in vitro*).

W doświadczeniu wazonowym, w którym porównywano odmiany *Fragaria vesca* L., stwierdzono, że najwyższymi parametrami fluorescencji chlorofilu „a” (T_{FM} i A_M) i największą zawartością barwników asymilacyjnych w liściach charakteryzowały się rośliny pozyskane ze środowiska naturalnego. Jednocześnie w doświadczeniu hydroponicznym oraz prowadzonym w kulturach *in vitro* ustalono, że badane odmiany *Fragaria vesca* nie różniły się pod względem cech fizjologicznych.

W doświadczeniu wazonowym, w którym porównywano gatunki z rodzaju *Fragaria* udowodniono, że wyższymi wartościami parametrów wymiany gazowej charakteryzowały się *Fragaria virginiana* i *Fragaria chiloensis*, w porównaniu do *Fragaria vesca*.

Wykazano również, że rośliny pozyskane z sadzonek zielnych cechowały się wyższymi wartościami cech fizjologicznych niż rośliny pozyskane z kultur *in vitro*.

Udowodniono ponadto, że niedobór wody w podłożu istotnie wpływał na cechy fizjologiczne roślin z rodzaju *Fragaria*, przy czym wykazane zmiany były uzależnione od badanego genotypu, rodzaju doświadczenia i określanego parametru.

Ustalono także, że poszczególne genotypy z rodzaju *Fragaria* na poziomie zarówno odmiany, jak i gatunku, oraz rośliny pozyskane różnymi metodami rozmnażania różniły się reakcją na deficyt wody w podłożu, ocenianą na podstawie ich cech fizjologicznych, przy czym: w doświadczeniu wazonowym, w którym porównywano odmiany *Fragaria vesca* L., lepszym dostosowaniem do warunków niedoboru wody charakteryzowały się rośliny odmian uprawnych („Rugia” i „Baron von Solemacher”), w porównaniu z roślinami pozyskanymi ze środowiska naturalnego, w doświadczeniu hydroponicznym — odmiana „Rugia” w stosunku do „Baron von Solemacher”, a w kulturach *in vitro* — „Baron von Solemacher” w stosunku do odmiany „Rugia”.

W doświadczeniu, w którym porównywano gatunki z rodzaju *Fragaria* stwierdzono większą odporność na deficyt wody w podłożu, gatunków pierwotnych, tj. *Fragaria virginiana* i *Fragaria chiloensis*, w porównaniu z poziomką pospolitą (*Fragaria vesca*).

Rośliny pochodzące z kultur *in vitro* były lepiej dostosowane do warunków niedoboru wody w podłożu niż rośliny pozyskane z sadzonek zielnych.

Na podstawie przeprowadzonych badań ustalono, że wskaźnikami przydatnymi do oceny stanu fizjologicznego roślin z rodzaju *Fragaria* w warunkach stresu wywołanego niedoborem wody były: parametry wymiany gazowej, zawartość wolnej proliny w liściach, cechy morfometryczne, wielkość plonu owoców oraz masa pojedynczego owocu. Takie wskaźniki jak: zawartość barwników asymilacyjnych w liściach, parametry fluorescencji chlorofilu „a”, względna zawartość wody w liściach, świeża masa systemu korzeniowego, zawartość pierwiastków oraz stosunek K:(Ca+Mg) w organach roślin były mniej wrażliwe na zastosowany poziom uwodnienia i w związku z tym nie były tak przydatne do oceny reakcji roślin na niedobór wody w podłożu.

Podsumowując rozdział „Wyniki” uważam, że na wysoką ocenę zasługuje znajomość metod analitycznych przez Doktorantkę oraz właściwe interpretowanie uzyskanych rezultatów.

Przedstawiona dyskusja wyników świadczy o dobrej znajomości współczesnej literatury światowej dotyczącej realizowanej tematyki badań. Doktorantka omówiła uzyskane wyniki na tle aktualnych doniesień literatury naukowej.

Na zakończenie opisu osiągnięcia naukowego Doktorantka zamieściła wnioski wynikające z przeprowadzonych doświadczeń. Ujmują one trafnie najważniejsze osiągnięcia pracy.

Podana literatura jest wystarczająca i właściwie dobrana, a praca jest wzbogacona autorskimi zdjęciami Doktorantki.

W końcowej części opracowania zamieszczono „Streszczenie” w języku polskim i „Abstract” w języku angielskim. Doktorantka zawarła w nich syntetyczne podsumowanie zagadnień omawianych w dysertacji oraz wnioski wpływające z przeprowadzonych badań.

Po analizie tekstu rozprawy doktorskiej mam następujące pytania do doktorantki:

1. Na czym polegają strategie dostosowawcze roślin do przetrwania niekorzystnych warunków środowiska - adaptacja i aklimatyzacja. Proszę podać przykłady.
2. System obronny komórek przed deficytem wody (i innymi czynnikami stresowymi) obejmuje enzymatyczne i nieenzymatyczne mechanizmy antyoksydacyjne. Proszę podać przykłady.

Ocena końcowa

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska została wykonana poprawnie pod względem metodycznym. Doktorantka przedstawiła badania dotyczące określenia wpływu niedoboru wody na stan fizjologiczny roślin z rodzaju *Fragaria*. Praca wnosi nowe, cenne informacje uzupełniające wiedzę o adaptacji różnych gatunków i odmian do ograniczonej dostępności wody.

Równocześnie w rozprawie porównano cechy fizjologiczne genotypów z rodzaju *Fragaria* (zarówno gatunków jak i odmian) oraz roślin pozyskanych różnymi metodami rozmnażania uprawianych w warunkach optymalnego uwilgotnienia podłoża.

Uważam, że Doktorantka wykazała się umiejętnością prowadzenia części eksperymentalnej w zróżnicowanych typach doświadczeń (wazonowe, hydroponiczne, kultury *in vitro*), zdobyła bogate doświadczenie w technikach analitycznych/pomiarowych, orientuje się we współczesnej literaturze problemu oraz potrafi formułować logiczne wnioski.

Przedstawiona rozprawa ujawnia możliwości dalszych badań mających na celu: 1). Dodatkowe wyjaśnienie mechanizmów tolerancji na stres wodny z wykorzystaniem roślin z rodzaju *Fragaria*; 2). Zwiększenie tolerancji roślin na

abiotyczne czynniki stresowe poprzez objaśnienie molekularnych podstaw reakcji na stres i wykorzystanie tych informacji w przyszłych pracach biotechnologicznych.

Na zakończenie stwierdzam, że moja ocena pracy doktorskiej mgr inż. Marty Rokosy pt. „Wpływ niedoboru wody na stan fizjologiczny wybranych gatunków z rodzaju *Fragaria* w uprawie wazonowej, hydroponicznej i w kulturach *in vitro*” jest pozytywna. Rozprawa mieści się w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie ogrodnictwo, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 poz. 595 z późn. zm.).

W związku z powyższym zwracam się do Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Marty Rokosy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Płowdiw, 01.09.2022 r.

