

Abstract

The use of biostimulants in horticultural reduces the chemization of plant production while maintaining yield and quality of crops and preserving natural resources. However, it should be noted that plant biostimulants are not universal and their use for a species depends on many variables such as abiotic factors and genetic variations. Previous studies on the use of biostimulants have focused mainly on their impact on productivity and yielding, while their impact on the biochemical and physiological traits of horticultural plants has been analyzed to a lesser extent. Effective Microorganisms (EM) and Tytanit® are biostimulants that become more popular among food producers, but the knowledge about their influence on specific species and varieties of plants is basic and requires supplementation.

Four individual experiments were carried out on selected species of horticultural plants. The use of EM in the cultivation of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), var. Piccolino, resulted in the reduction of two analyzed parameters related to oxidative stress, i.e. proline and malondialdehyde contents. In the case of the cultivation of two grapevines (*Vitis vinifera* L.) cv. Regent and Cabernet Cortis rooted with 4 and 8 buds, EM had no significant effect on the total extract content and fruit acidity. However, it reduced the overall content of polyphenols in the fruit. The experiment on the use of Tytanit® in the cultivation of wild strawberry (*Fragaria vesca* L.) var. Baron von Solemacher under salinity conditions, showed varied effect on the studied physiological parameters. At the beginning of the growing season, Tytanit® lowered the level of proline in plants, while later it lowered the efficiency of the photosynthetic apparatus of plants F_v/F_m and F_v/F_o , and reduced the content of assimilation pigments. On the basis of the obtained results, it can be concluded that the preparation did not show an alleviating effect on salinity stress, as assumed. The experiment with common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Jagusia, revealed a positive effect of both preparations on photosynthetic pigments. EM, unlike Tytanit®, reduced the synthesis of proline and malondialdehyde. However, the preparations did not affect yield, but significantly decreased its quality by reducing the content of manganese, magnesium, phosphorus and calcium in the pods.

Olga Chmiga
09.06.2021 r.

Streszczenie

Stosowanie biostymulatorów w uprawach ogrodnich wpływa na ograniczenie chemizacji produkcji roślin przy jednoczesnym utrzymaniu wydajności i jakości plonów oraz zachowaniu zasobów środowiska naturalnego. Należy jednak zaznaczyć, że biostymulatory nie są uniwersalne, a ich dobór do uprawianego gatunku jest uzależniony od takich zmiennych jak m. in. czynniki abiotyczne czy uwarunkowania genetyczne roślin. Dotychczasowe badania nad zastosowaniem biostymulatorów skupiały się głównie na ich wpływie na produktywność i wielkość plonowania, natomiast w mniejszym stopniu analizowano ich oddziaływanie na procesy biochemiczne i fizjologiczne roślin ogrodnich. Efektywne Mikroorganizmy (EM) i Tytanit® należą do grupy biostymulatorów cieszących się coraz większym zainteresowaniem producentów żywności, jednak wiedza o ich wpływie na konkretne gatunki i odmiany roślin użytkowanych gospodarczo jest podstawowa i wymaga uzupełnienia.

W ramach niniejszej pracy przeprowadzono cztery niezależne eksperymenty na wybranych gatunkach roślin ogrodnich. Zastosowanie EM w uprawie bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum* L.) odmiana Piccolino spowodowało obniżenie dwóch badanych wskaźników stresu oksydacyjnego tj. proliny i dialdehydu malonowego. W przypadku uprawy dwóch odmian winorośli (*Vitis vinifera* L.) Regent i Cabernet Cortis prowadzonych na 4 i 8 pędów, EM nie miały istotnego wpływu na zawartość ekstraktu ogólnego oraz kwasowość owoców, natomiast wpłynęły na obniżenie w owocach ogólnej zawartości polifenoli. Eksperyment dotyczący zastosowania Tytanitu w uprawie poziomki pospolitej (*Fragaria vesca* L.) odm. Baron von Solemacher uprawianej w warunkach zasolenia wykazał zróżnicowany wpływ preparatu na zbadane parametry fizjologiczne. Na początku okresu wegetacji Tytanit® wpłynął na obniżenie poziomu proliny w roślinach, natomiast w późniejszym okresie obniżył wartości wskaźników wydajność aparatu fotosyntetycznego roślin F_v/F_m i F_v/F_o , a także spowodował zmniejszenie zawartości barwników asymilacyjnych. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że preparat nie wykazał łagodzącego wpływu na stres wywołany zasoleniem, jak zakładano. Eksperyment z fasolą zwyczajną (*Phaseolus vulgaris* L.) odm. Jagusia, wykazał pozytywny wpływ obu preparatów tj. EM i Tytanitu na zwiększenie zawartości barwników asymilacyjnych. Efektywne Mikroorganizmy w przeciwieństwie do Tytanitu, zredukował syntezę proliny i dialdehydu malonowego. Zastosowane preparaty nie miały wpływu na wielkość plonu, natomiast istotnie obniżyły jego jakość poprzez zmniejszenie zawartości manganu, magnezu, fosforu oraz wapnia w strąkach.

Alina Kumigo
09.06.2021 r.

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 czasopiśmie 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.

 1

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 ogrodniczych. 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 użytkowe.

W części „Przegląd literatury” przedstawiono problematykę występowania stresów u roślin w produkcji rolniczej i ogrodniczej. 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 ogrodnich uprawianych w różnych warunkach siedliskowych. **Celem użytkowym** pracy było określenie przydatności badanych preparatów w uprawie wybranych gatunków roślin ogrodnich, 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 ogrodnich 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 F_v/F_m , niż rośliny uprawiane bez Tytanitu. Zastosowanie Tytanitu miało także wpływ na parametr F_v/F_o . 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 utylitarne 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.

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

3) Doktorantka postawiła dwa cele: naukowy i użytkowy. 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 wnioskowała 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



dr hab. inż. Ireneusz Sosna, prof. uczelni
Katedra Ogrodnictwa
Wydział Przyrodniczo-Technologiczny
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 12.09.2021

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Alicji Aurigi,
stanowiącej cykl publikacji pt. „Ocena oddziaływania preparatów EM i Tytanit® na
kształtowanie się parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych
wybranych roślin ogrodniczych” wykonanej w Katedrze Bioinżynierii, na Wydziale
Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu
Technologicznego w Szczecinie pod kierunkiem dr hab. inż. Jacka Wróbla prof. ZUT
(promotor).**

Formalna podstawa prawna. Recenzja przygotowana została na podstawie uchwały nr 147 Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie (pismo WKŚiR-RD RiO/234 z dnia 28 czerwca 2021 r. podpisane przez Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa prof. dr hab. inż. Arkadiusza Telesińskiego).

W rolnictwie biostymulatory stanowią składnik nawozów lub są stosowane osobno, jako preparaty przyspieszające wchłanianie substancji pokarmowych. Preparaty te stymulują wzrost i rozwój roślin, dzięki czemu może ulec poprawie wielkość i jakość plonu. Zawierają substancje i/lub mikroorganizmy, przeznaczone do stosowania na roślinę lub strefę korzeniową w celu stymulowania naturalnych procesów zwiększających efektywność wykorzystania składników pokarmowych, tolerancję na stres abiotyczny (susza, zasolenie gleby, niedobór składników pokarmowych) i poprawę cech jakościowych roślin, niezależnie od zawartości składników odżywczych. Jako preparaty bezpieczne dla człowieka i środowiska znajdują zastosowanie w ochronie roślin. Biostymulatory mogą być naturalne (np. wyciągi z alg morskich, związki humusowe, wolne aminokwasy czy efektywne mikroorganizmy) oraz syntetyczne (np. sole organiczne lub składniki pokarmowe takie jak selen, tytan czy krzem).

Intensyfikacja produkcji roślin metodami konwencjonalnymi wiąże się z dużą chemizacją, co ma bezpośredni wpływ na środowisko, jakość żywności i zdrowie konsumenta. Równocześnie pojawiające się coraz częściej anomalie pogodowe mogą

potęgować stres abiotyczny u roślin, który osłabia ich kondycję, co ostatecznie przekłada się na mniejszą wydajność i pogorszenie jakości plonu. Z tego powodu w nowoczesnym rolnictwie, zwłaszcza ekologicznym, poświęca się coraz więcej uwagi na wykorzystanie preparatów niechemicznych, do których zaliczyć można biostymulatory. Dotychczasowe badania nad nimi dotyczyły przede wszystkim ich wpływu na wielkość i jakość plonu, natomiast zdecydowanie rzadziej analizowano ich oddziaływanie na procesy biochemiczne i fizjologiczne roślin. Z tego względu podjęcie przez mgr inż. Alicję Aurigę badań nad wpływem wybranych dwóch biostymulatorów (EM i Tytanit®) nie tylko na parametry jakościowe, lecz także na parametry biochemiczne i fizjologiczne kilku roślin ogrodniczych (bazylia drobnolistna, winorośl, poziomka i fasola) uważam za wysoce zasadne, potrzebne i bardzo cenne.

Formalna ocena pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Alicji Aurigi pod zbiorczym tytułem: „Ocena oddziaływania preparatów EM i Tytanit® na kształtowanie się parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych wybranych roślin ogrodniczych” zgodnie z nowelizacją ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 20 lipca 2018 roku (poz. 1668, art. 187, punkt 3), ma formę spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Report (JCR) wykazu Ministra Edukacji i Nauki z 2021 roku.

Na rozprawę składają się 4 oryginalne prace naukowe z lat 2018-2021. Zostały one opublikowane w różnych czasopismach znajdujących się w bazie JCR. Sumaryczny Impact Factor (IF) tych publikacji wynosi 4,722, a suma punktów 250. Publikacje są zbiorowe i zgodnie z wymogami zawartymi w rozporządzeniu MNiSW z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, zamieszczone są oświadczenia wszystkich współautorów określające procentowy wkład każdego z nich w powstanie publikacji. Łączny dorobek naukowy Doktorantki jest więc bardzo duży, tym bardziej, że z przedstawionych oświadczeń wynika, że jej wkład w powstanie wszystkich publikacji był znaczący. We wszystkich artykułach Doktorantka jest pierwszym (i korespondencyjnym) autorem, z udziałem własnym na poziomie 90% (publikacja P1), 80% (publikacja P4), 75% (publikacja P3) oraz 65% (publikacja P2). Szkoda, że Doktorantka nie podaje, na czym konkretnie polegał jej wkład w omawianych publikacjach i co obejmował. Żadnych wątpliwości nie budzi natomiast fakt, że włączone do rozprawy

doktorskiej artykuły stanowią spójny tematycznie zbiór, którego wspólnym elementem są badania parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych wybranych roślin ogrodniczych po zastosowaniu dwóch biostymulatorów – EM i Tytanit®.

Kopie artykułów zostały poprzedzone 38-stronicowym opisem, w skład którego wchodzi 9 rozdziałów, uszeregowanych w następującej kolejności: Streszczenie w jęz. polskim, Abstract w jęz. angielskim, Dorobek naukowy stanowiący rozprawę doktorską, Przegląd literatury, Cel i zakres pracy zakończony postawieniem hipotezy badawczej, Materiał i metody badań, Omówienie uzyskanych wyników przedstawionych w publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe, Podsumowanie i wnioski oraz Spis literatury obejmujący 64 pozycje. Układ pracy z takim podziałem na poszczególne rozdziały jest typowy dla opracowań o charakterze doświadczalnym i powszechnie stosowany. Jednak spis treści powinien obejmować streszczenia, a więc należało go umieścić przed nimi.

Merytoryczna ocena pracy

W Przeglądzie literatury w oparciu o literaturę tematu Doktorantka uzasadnia potrzebę stosowania biostymulatorów w rolnictwie i podaje ich definicję. Opisuje te z nich, które wykorzystwała w swoich badaniach, a mianowicie Efektywne Mikroorganizmy (EM) oraz Tytanit®. Dużo uwagi poświęca ich wpływowi na różne rośliny, który nie jest jednoznaczny. Stara się również wyjaśnić, dlaczego tak się dzieje. W rozdziale tym, który stanowi duży skrót przeglądów piśmiennictwa zamieszczonych w recenzowanych publikacjach, przytacza badania przeprowadzone na roślinach rolniczych, warzywach i ziołach, podczas gdy gatunków sadowniczych jest niewiele (tylko malina i truskawka). Nie jest to mankament ale Recenzent odczuwa pewien niedosyt, ponieważ połowa publikacji składających się na rozprawę doktorską dotyczy właśnie tych roślin (winorośl i poziomka).

Cele naukowe pracy zostały jasno określone. Było nimi badanie wpływu preparatu EM na biochemiczne parametry stresu oksydacyjnego (prolina i MDA) w liściach bazylii ‘Piccolino’ oraz na zawartość ekstraktu, kwasowość i profil polifenoli w owocach winorośli ‘Regent’ i ‘Cabernet Cortis’ (P1 i P2), analiza wpływu preparatu Tytanit® na zawartość barwników asymilacyjnych i proliny, wydajność aparatu fotosyntetycznego oraz względną zawartość wody (RWC) w liściach poziomki pospolitej ‘Baron Solemacher’ uprawianej w warunkach zróżnicowanego zasolenia (P3) oraz badanie oddziaływania preparatów EM i Tytanit® na wybrane parametry fizjologiczne, biochemiczne i jakościowe fasoli zwyczajnej odmiany ‘Jagusia’ (P4). Cele praktyczne postawione w recenzowanej pracy doktorskiej umożliwiły sformułowanie hipotezy badawczej o następującym brzmieniu:

poprawa procesów fizjologicznych, jakościowych i plonowania kilku roślin ogrodniczych oraz złagodzenie przebiegu reakcji stresowych wywołanych zasoleniem podłoża po zastosowaniu biostymulatorów EM i Tytanit®.

Rozdział Materiał i metody badań napisano w sposób przejrzysty i zrozumiały. Doktorantka opisuje w nim materiał badawczy użyty do przeprowadzenia badań. W przypadku trzech publikacji (P1, P3 i P4) były to dwuletnie doświadczenia wazonowe, z których pobierano materiał roślinny w różnych fazach fenologicznych. W publikacji P2 materiał badawczy stanowiły owoce winorośli zebrane w dwóch kolejnych latach w okresie dojrzałości zbiorczej. W opisie brakuje liczby powtórzeń oraz ile owoców pobierano do analiz chemicznych z jednego powtórzenia (w publikacji taka informacja się znajduje). W dalszej części tego rozdziału Doktorantka podaje, jakimi metodami przeprowadzono poszczególne badania parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych. Jednak w badaniach z poziomką nie wyjaśnia, co oznacza wskaźnik WSD. Ponadto liczba oraz świeża masa strąków z jednej rośliny fasoli to nie jest parametr jakościowy, a ilościowy, bo świadczy o wielkości zebranego plonu.

W kolejnym rozdziale Doktorantka zwięźle, prawidłowo i w sposób bardzo przejrzysty omówiła wyniki badań przedstawionych w czterech oryginalnych artykułach naukowych, które stanowią rozprawę doktorską. W przypadku badań przyrodniczych, gdzie zmienność warunków klimatycznych odgrywa bardzo istotną rolę, dobrą praktyką jest prowadzenie badań przez kilka sezonów wegetacyjnych, aby uzyskać jak najbardziej obiektywne wyniki. Jest to szczególnie ważne w doświadczeniu polowym z winoroślą, z którego pobierano owoce do analiz chemicznych (publikacja P2). W przedstawionym do recenzji osiągnięciu naukowym publikacje dotyczą doświadczeń dwuletnich prowadzonych w latach 2014-2015 (P1, P2) oraz w latach 2016-2017 (P3, P4). Zarówno w rozdziale Omówienie uzyskanych wyników, jak i w dołączonych kserach publikacji brakuje informacji, jakie wyniki one przedstawiają – z jednego wybranego roku, czy wartości średnie z dwóch lat. Domyślam się, że są to wartości średnie ale taka informacja koniecznie powinna być podana w tytule nad tabelą lub pod wykresem. Z obowiązku Recenzenta wspomnę o pomyłce w tytule Tabeli nr 1 (str. 27), w którym Autorka podała „.....na zawartość polifenoli ogółem”, a powinno być „.....na zawartość poszczególnych grup polifenoli”. Analizując uzyskane wyniki doświadczenia nr 3 nie ustrzegła się drobnego błędu stwierdzając, że „wyższe zasolenie podłoża (50 i 100 mM l⁻¹), niezależnie od terminu pomiaru, istotnie zwiększyło ilości proliny w liściach poziomki” – str. 31. Stwierdzenie to jest prawdziwe tylko w odniesieniu do najwyższego zasolenia S3 (przy wcześniejszym pomiarze brak jest różnicy

istotnej pomiędzy zasoleniem S2, a kontrolą S1). Podobna nieścisłość pojawiła się przy interpretacji wyników doświadczenia nr 4. Doktorantka podaje, że „rośliny traktowane preparatami charakteryzowały się istotnie wyższą średnią zawartością badanych barwników niż kontrola” – str. 34. Jednak nie jest to prawda w odniesieniu do chlorofilu A (dla tego barwnika brak różnicy istotnej pomiędzy preparatem EM, a kontrolą).

Końcowe rezultaty prowadzonych doświadczeń Doktorantka podsumowała w sześciu ciekawych wnioskach. Niestety, tylko połowa z nich została sformułowana poprawnie i znajduje pełne potwierdzenie w uzyskanych wynikach badań. We wniosku nr 1 Autorka podaje, że Efektywne Mikroorganizmy istotnie obniżyły poziom MDA u fasoli zwyczajnej, podczas gdy odnotowano nieistotny wzrost tego poziomu (tab. 4, str. 34). We wniosku nr 3 napisano, że preparat Tytanit[®] istotnie obniżył parametry wydajności aparatu fotosyntetycznego w późniejszej fazie fenologicznej roślin, podczas gdy je podwyższył, a w przypadku parametru F_v/F_m była to nawet różnica istotna (tab. 3, str. 32). Błędnie sformułowano również wniosek nr 5. Prawidłowo powinien on brzmieć następująco: „Zastosowanie Tytanitu jak i Efektywnych Mikroorganizmów w uprawie fasoli zwyczajnej nie wpłynęło na wielkość plonu, natomiast znacząco obniżyło jego wartość biologiczną poprzez istotne zmniejszenie zawartości cennych żywieniowo pierwiastków w strąkach fasoli, takich jak mangan i magnez oraz fosfor i żelazo (EM), a sód i wapń (Tytanit[®]) – tab. 5, str. 36.

Spis literatury obejmuje 64 pozycje, w tym 47 w języku angielskim i jedną z internetu. Zostały one uszeregowane w kolejności alfabetycznej. Przy opisie wyników doświadczenia 3 zacytowano pozycję Yurdugul 2008 (str. 30), która nie znalazła się w spisie. Oczywiście są to pozycje wybrane, ponieważ łącznie we wszystkich publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Doktorantka cytuje 140 prace, z których część się powtarza w przynajmniej dwóch artykułach. W przytoczonym spisie znalazło się tylko 5 publikacji naukowych z ostatnich pięciu lat (2017-2021), co pozostawia niewielki niedosyt.

Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki w ocenianej rozprawie doktorskiej zaliczam:

1. udowodnienie, że stosowanie preparatu EM (Efektywnych Mikroorganizmów) łagodzi skutki stresu oksydacyjnego poprzez obniżenie stężenia wolnej proliny oraz dialdehydu malonowego MDA w ziele bazylii drobnolistnej, co wskazuje na jego przydatność w aklimatyzacji tej rośliny do warunków stresowych;
2. wykazanie, że Efektywne Mikroorganizmy obniżyły wartość biologiczną owoców, poprzez redukcję zawartości w nich polifenoli, dwóch badanych odmian winorośli;

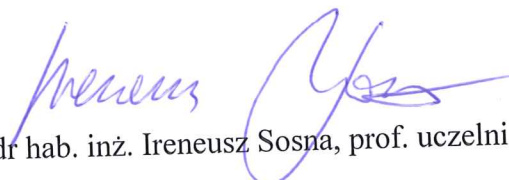
3. wykazanie braku łagodzącego wpływu biostymulatora Tytanit® na stres spowodowany zasoleniem podłoża w uprawie poziomki pospolitej;
4. wykazanie, że zastosowanie obu preparatów (EM i Tytanit) miało pozytywny wpływ na zwiększenie zawartości barwników asymilacyjnych w liściach fasoli zwyczajnej lecz równocześnie spowodowało niewielki spadek plonu i obniżenie jego wartości biologicznej;

Wniosek końcowy

W podsumowaniu chciałbym podkreślić, że Pani mgr inż. Alicja Auriga prawidłowo zaplanowała i przeprowadziła obszerne badania, głównie laboratoryjne, zakończone publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego. Uzyskane wyniki przedstawiła syntetycznie, przez co są one łatwiejsze do interpretacji. Autorka zrealizowała cele pracy oraz wniosła nowe treści poznawcze do stanu wiedzy w zakresie stosowania biostymulatorów EM i Tytanit® w uprawie wybranych roślin ogrodniczych.

Uwzględniając całokształt przedstawionych osiągnięć Doktorantki stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr inż. Alicji Aurigi, stanowiąca zbiór publikacji pt.: „Ocena oddziaływania preparatów EM i Tytanit® na kształtowanie się parametrów biochemicznych, fizjologicznych i jakościowych wybranych roślin ogrodniczych”, zgodnie z wymogami zawartymi w rozporządzeniu MNiSW z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. 2018, poz. 261), spełnia kryteria formalne i merytoryczne stawiane pracom doktorskim.

Zwracam się zatem do Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie Pani mgr inż. Alicji Aurigi do dalszych etapów przewodu doktorskiego o nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.


dr hab. inż. Ireneusz Sosna, prof. uczelni

UCHWAŁA NR 234
Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
z dnia 29 listopada 2021 r.

w sprawie nadania mgr inż. Alicji Auridze
stopnia doktora

Na podstawie art. 179 ust. 1 i 3 pkt 2b ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. poz. 1669, z późn. zm.) w związku z art. 14 ust. 2 pkt 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jedn. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789, z późn. zm.) uchwala się, co następuje:

§ 1.

Senat Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie nadaje mgr inż. Alicji Auridze stopień doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

§ 2.

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

Przewodniczący Senatu

Rektor

dr hab. inż. Jacek Wróbel, prof. ZUT