

Abstract

Drought is one of the major issues of climate change. The basic global problem related to the increasing water deficit is that the vast majority of crops are species and varieties resulting from breeding work that did not anticipate such a sharp reduction in water availability in the soil. The first step in breeding works aimed at increasing the resistance of plants to water deficit by improving the efficiency of its use is to determine the adaptation level of various genotypes (varieties) to limited water availability. In this regard, it is worth to note plants of the genus *Fragaria* – its fruits are great economic importance in Poland and in the world, and the plants are characterized by high sensitivity to water deficiency, which is related to their large leaf surface, high water content in the fruit and shallow root system.

Despite many efforts to understand the response of plants to water stress, few studies have been conducted that simultaneously compared the physiological characteristics of genotypes (both species and cultivars) obtained by different methods of reproduction in different types of experiments. The aim of the research was to compare the physiological and biochemical response of *Fragaria* plants to water deficit under the conditions of pot and hydroponic experiments and *in vitro* cultures. The obtained results also allowed to determine the usefulness of selected physiological and biochemical methods for the assessment of the physiological conditions of *Fragaria* plants under water stress. Above all, however, the obtained research results are intended to show the direction of future biotechnological works aimed at improving the resistance of plants of the genus *Fragaria* to stress related to water deficit.

Three independent pot experiments, located in the vegetation hall of the Faculty of Environmental Management and Agriculture of the West Pomeranian University of Technology in Szczecin, two independent hydroponic experiments in the phytotron of the Department of Bioengineering and one experiment in *in vitro* cultures, in the laboratory of the Department of Genetics, Breeding and Plant Biotechnology were carried out, in which depending on type of cultivation, plants of the genus *Fragaria* were compared (species: *F. vesca*, *F. virginiana*, *F. chiloensis*; cultivars: *F. vesca* cv. Rugia, *F. vesca* cv. Baron von Solemacher, *F. vesca* obtained from the natural environment and *F. vesca* cv. Rugia from herbaceous cuttings and from *in vitro* cultures).

As part of the experiments, depending on its type, the following parameters were measured and analyzed: the content of assimilation pigments in the leaves, the index of the relative water content in the leaves, gas exchange parameters, chlorophyll "a" fluorescence

19.05.2022r.
Julia Miska

parameters, the content of free proline in the leaves, the total fruit yield, single fruit weight, fresh and dry mass of the root system, the content of K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Mn, Mo and the ratio of monovalent to divalent cations in leaves, roots and plant crowns, and selected morphological features.

As a result of the conducted research, it was shown, among others, that the studied genotypes of the genus *Fragaria*, both species and cultivars, and plants obtained by various methods of reproduction (from herbaceous cuttings and by *in vitro* method), differ in physiological characteristics. Moreover, the lack of soil moisture significantly influenced the physiological characteristics of *Fragaria* plants, and the changes shown were dependent on the genotype, the method of obtaining the plants, the type of experiment and the measured parameter. In the experiment in which species from the genus *Fragaria* were compared, the primary species, i.e. *F. virginiana* and *F. chiloensis*, were characterized by better adaptation to the conditions of water deficit in the substrate, compared to the common wild strawberry (*F. vesca*), and plants from cultures *in vitro* were more resistant to the adverse effects of insufficient substrate moisture than plants obtained from herbaceous cuttings. The following features were useful for assessing the physiological condition of *Fragaria* plants under stress caused by water shortage: gas exchange parameters, free proline content in leaves, morphometric features, fruit yield and single fruit weight.

18.05.2022r.

Elżbieta Koste

Streszczenie

Susza jest jedną z istotnych kwestii zmian klimatycznych. Podstawowym problemem globalnym związanym z narastającym deficytem wody jest to, że zdecydowana większość roślin uprawnych to gatunki i odmiany będące wynikiem prac hodowlanych, które nie przewidywały tak gwałtownego zmniejszenia dostępności wody w glebie. Pierwszym krokiem w pracach hodowlanych, których celem jest zwiększenie odporności roślin na niedobór wody, poprzez poprawę wydajności jej wykorzystania, jest określenie stopnia adaptacji różnych genotypów (odmian) do ograniczonej dostępności wody. Pod tym względem warto zwrócić uwagę na rośliny z rodzaju *Fragaria*, których owoce posiadają duże znaczenie gospodarcze w Polsce i na świecie, a same rośliny charakteryzują się wysoką wrażliwością na niedobór wody, co związane jest z ich dużą powierzchnią liści, wysoką zawartością wody w owocach oraz płytkim systemem korzeniowym.

Pomimo wielu wysiłków poświęconych zrozumieniu reakcji roślin na stres wodny, przeprowadzono niewiele badań, w których jednocześnie porównywano cechy fizjologiczne genotypów (zarówno gatunków, jak i odmian), pozyskanych różnymi metodami rozmnażania, w zróżnicowanych typach doświadczeń. Celem przeprowadzonych badań było porównanie fizjologiczno-biochemicznej reakcji roślin z rodzaju *Fragaria* na niedobór wody, w warunkach doświadczeń wazonowych, hydroponicznych oraz kultur *in vitro*. Uzyskane wyniki pozwoliły również określić przydatność wybranych metod fizjologiczno-biochemicznych do oceny stanu fizjologicznego roślin z rodzaju *Fragaria* w warunkach stresu wodnego. Przede wszystkim jednak otrzymane rezultaty badań mają wskazywać kierunek przyszłych prac biotechnologicznych ukierunkowanych na poprawę odporności roślin z rodzaju *Fragaria* na stres związany z deficytem wody.

Przeprowadzono trzy niezależne doświadczenia wazonowe zlokalizowane na terenie hali wegetacyjnej Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, dwa niezależne doświadczenia hydroponiczne w fitotronie Katedry Bioinżynierii oraz jedno doświadczenie w kulturach *in vitro* w laboratorium Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, w których zależnie od typu uprawy, porównywano ze sobą rośliny z rodzaju *Fragaria* (gatunki: *F. vesca*, *F. virginiana*, *F. chiloensis*; odmiany: *F. vesca* cv. Rugia, *F. vesca* cv. Baron von Solemacher, *F. vesca* pozyskaną ze środowiska naturalnego oraz *F. vesca* cv. Rugia pochodzącą z sadzonek zielnych i z kultur *in vitro*).

19.05.2021.
Barbara Mierke

W ramach doświadczeń, w zależności od jego typu wykonano następujące pomiary i analizy: zawartości barwników asymilacyjnych w liściach, wskaźnika względnej zawartości wody w liściach, parametrów wymiany gazowej, parametrów fluorescencji chlorofilu „a”, zawartości wolnej proliny w liściach, sumarycznego plonu owoców, masy pojedynczego owocu, świeżej i suchej masy systemu korzeniowego, zawartości K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Mn, Mo i stosunku kationów jedno- do dwuwartościowych w liściach, korzeniach i koronach roślin oraz wybranych cech morfologicznych.

W wyniku przeprowadzonych badań wykazano m.in., że badane genotypy z rodzaju *Fragaria*, zarówno gatunki, jak i odmiany, oraz rośliny pozyskane różnymi metodami rozmnażania (z sadzonek zielnych oraz metodą *in vitro*), różnią się między sobą cechami fizjologicznymi. Ponadto niedobór uwilgotnienia podłoża istotnie wpływał na cechy fizjologiczne roślin z rodzaju *Fragaria*, przy czym wykazane zmiany były uzależnione od badanego genotypu, metody pozyskania roślin, rodzaju doświadczenia i mierzonego parametru. W doświadczeniu, w którym porównywano gatunki z rodzaju *Fragaria* lepszym dostosowaniem do warunków deficytu wody w podłożu, charakteryzowały się gatunki pierwotne, tj. *F. virginiana* i *F. chiloensis* w porównaniu z poziomką pospolitą (*F. vesca*), a rośliny pochodzące z kultur *in vitro* były bardziej odporne na niekorzystny wpływ niedostatecznego uwilgotnienia podłoża niż rośliny pozyskane z sadzonek zielnych. Cechami przydatnymi do oceny stanu fizjologicznego roślin z rodzaju *Fragaria* w warunkach stresu wywołanego niedoborem wody okazały się: parametry wymiany gazowej, zawartość wolnej proliny w liściach, cechy morfometryczne, wielkość plonu owoców oraz masa pojedynczego owocu.

18.05.2022 r.
Dolore Meste

Dr hab. Monika Bieniasz prof. URK
Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa
Katedra Ogrodnictwa
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Recenzja pracy doktorskiej

pt „WPŁYW NIEDOBORU WODY NA STAN FIZJOLOGICZNY WYBRANYCH GATUNKÓW Z RODZAJU FRAGARIA W UPRAWIE WAZONOWEJ, HYDROPONICZNEJ I W KULTURACH IN VITRO”

Autor :mgr inż. Marta Rokosa

pod kierunkiem dr hab. inż. Małgorzaty Mikiciuk, prof. ZUT

Informacje o pracy oraz ocena strony formalnej

Pani mgr inż. Marta Rokosa przedstawiła do recenzji pracę uprawniającą ją do dalszego postępowania dotyczącego nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Praca została wykonana pod kierunkiem dr hab. Małgorzaty Mikiciuk prof. ZUT (Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny). Rozprawę przygotowano zgodnie z wymogami ustawy z dnia Recenzja została wykonana na zlecenie Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa prof. dr hab. Arkadiusza Telesińskiego zgodnie z uchwałą nr 187 z dnia 27 czerwca 2022 Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego podstawa prawna (14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, jak również rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora)

Przedstawiona do oceny praca jest obszerną monografią dotyczącą problemów niedoboru wody w uprawie gatunków *Fragaria*, rodzimych oraz amerykańskich. Monografia liczy 159 stron maszynopisu, 23 ryciny, 4 fotografie oraz 113 tabel. Zamieszczono obszerny przegląd literatury liczący 197 pozycji głównie obcojęzycznych i co zasługuje na podkreślenie większość pozycji to najnowsza literatura światowa. Od strony technicznej Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów technicznych i literowych oraz literatura nie jest jednolicie

zapisana. Jednak są to uchybienia o małym znaczeniu i z pewnością będą usunięte podczas przygotowywania materiału do publikacji w czasopismach naukowych. Opracowanie składa się z trzech doświadczeń dwóch jednorocznych i jednego dwuletniego.

Doktorantka postawiła trzy hipotezy badawcze:

1. porównywane genotypy z rodzaju *Fragaria*, zarówno gatunki jak i odmiany, oraz rośliny pozyskane różnymi metodami rozmnażania różnią się między sobą pod względem cech fizjologicznych,
2. niedobór wody w podłożu istotnie wpływa na cechy fizjologiczne roślin z rodzaju *Fragaria*,
3. porównywane genotypy z rodzaju *Fragaria*, zarówno gatunki jak i odmiany, oraz rośliny pozyskane różnymi metodami rozmnażania, różnią się pomiędzy sobą pod względem fizjologicznej reakcji na deficyt wody w podłożu

Praca jest napisana przejrzystym zrozumiałym językiem, pomimo bardzo złożonej struktury. Tabele i ryciny są zwięzłe zrozumiałe dla czytelnika. Opracowanie obrazuje ogrom pracy jaka musiała być włożona w realizację założonych celów. Tak obszerne działania dają obraz bardzo rzetelnego przygotowania doktorantki do zadań badawczych. Proces naukowy związany z powstaniem dysertacji doktorskiej powinien być poprawny merytorycznie i metodycznie, ponieważ przygotowuje przyszłego adepta nauki do dalszych poszukiwań w świecie szeroko pojętej nauki. Dlatego podkreślam, że warsztat badawczy jaki otrzymała doktorantka podczas wykonywania pracy, jest doskonałą bazą do dalszych wyzwań naukowych.

Wartość naukowa i merytoryczna pracy

Zagadnienia podjęte w pracach badawczych mgr inż. Marty Rokosy wpisują się w aktualne wyzwania stojące przed współczesnym rolnictwem. Problem niedoboru wody w ostatnich latach jest jednym z najpoważniejszych wyzwań w szeroko pojętym rolnictwie. Zmieniający się klimat, występowanie bardzo długich okresów niedoboru wody w rejonach klimatu umiarkowanego, gdzie do niedawna woda była tylko suplementowana w uprawach, dzisiaj staje się poważnym wyzwaniem. Dlatego podejmowanie szczegółowych badań dotyczących reakcji fizjologicznej roślin uprawnych na niedobór wody, może pozwolić na stworzenie precyzyjnych modeli suplementowania wody bez strat ekonomicznych

w uprawach rolniczych. Poziomki i truskawki są jednymi z najchętniej uprawianych i spożywanych zaraz po malinach, borówkach, jeżynach owoców jagodowych na świecie. Jednak są to gatunki, które do osiągnięcia zadowalającej jakości handlowej wymagają dużej ilości wody, podawanej systematycznie podczas całego okresu uprawy. Dlatego wybór rośliny modelowej jest zasadny, gdyż poziomki i truskawki tracą wartość handlową w deficycie wody. Jeśli udałoby się określić wartości wybranych parametrów można by było pokusić się o stworzenia modeli dla większych upraw związanych z dobrą praktyką wykorzystywanie wody.

Doktorantka podjęła się bardzo szczegółowej analizy fizjologicznej roślin gatunków z rodzaju *Fragaria*, a wyniki mogą być doskonałą bazą do aplikacji praktycznej.

Doświadczenie 1 (dwuletnie, przeprowadzone w latach 2018-2019), materiał badawczy - sadzonki zielne odmian *F. vesca*: Rugia, Baron von Solemacher oraz rośliny pozyskane ze środowiska naturalnego;

W opisie doświadczenia pierwszego napisano rośliny pozyskane ze środowiska naturalnego. Jest to określenie nieprecyzyjne, bo może sugerować, że rośliny były pozyskane z lasu, czy polany, a jeśli tak, to trzeba by było podać miejsce pochodzenia i z jakiego powodu podjęto takie działanie.

Doświadczenie 2 (jednoroczne, przeprowadzone w roku 2020), gdzie materiałem badawczym były sadzonki zielne gatunków z rodzaju *Fragaria*: *F. vesca*, *F. chiloensis* oraz *F. virginiana*;

Gatunki amerykańskie są *F. chiloensis* oraz *F. virginiana*; rodzicami większości uprawnych odmian truskawki, dlatego wiedza o ich wrażliwości lub tolerancji na niedobór wody jest bardzo istotna dla celów hodowlanych. *F. vesca* jest odrębną linią odmian uprawnych o bardzo delikatesowym znaczeniu.

Doświadczenie 3 (jednoroczne, przeprowadzone w 2020 roku), gdzie materiałem badawczym były sadzonki *F. vesca* 'Rugia' wyhodowane w kulturach *in vitro* i następnie zaaklimatyzowane do warunków szklarniowych oraz pozyskane z sadzonek zielnych i rosnące w glebie przez cały okres wegetacji.

Techniki *in vitro* są bardzo powszechną technologią do pozyskiwania materiału szkółkarskiego gatunków z rodzaju *Fragaria* informacje na temat zachowania roślin uzyskanych tą techniką są przedmiotem wielu prac naukowych. Bardzo interesującym wydaje się podjęcie tego tematu w tym aspekcie.

Wszystkie doświadczenia były prowadzone w warunkach wazonowych, w kulturach in-vitro oraz hydroponicznie.

Autorka w każdym roku badań, trzykrotnie w trakcie sezonu wegetacyjnego, w drugiej połowie lipca, sierpnia i września wykonała pomiary i analizy: – zawartości barwników asymilacyjnych w liściach (chlorofilu „a”, chlorofilu „b”, chlorofilu całkowitego, karotenoidów, – wskaźnika względnej zawartości wody w liściach RWC, – parametrów wymiany gazowej roślin (intensywności asymilacji CO₂ netto (Pn), intensywności transpiracji H₂O (E), przewodnictwa szparkowego H₂O (gs), podszparkowego stężenia CO₂. Obliczono fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody (WUE), zawartości wolnej proliny w liściach. Określono sumaryczny plon owoców poziomki, masę pojedynczego owocu. Po zakończeniu każdego doświadczenia określono wagowo świeżą i suchą masę systemu korzeniowego oraz określono zawartość K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Mn, Mo i stosunek kationów jednodo dwuwartościowych w liściach, korzeniach oraz koronach roślin.

W pracy przedstawiono 113 zestawień tabelarycznych w których doktorantka zestawiała skrupulatnie wszystkie analizowane parametry. Wniosek dotyczący różnych parametrów fizjologicznych związanych z metodą pozyskania rośliny nie zaskakuje, gdyż rośliny z sadzonek zielnych są w pełni fizjologicznie ukształtowane, natomiast te z kultur in-vitro jeszcze w początkowych etapach wzrostu przechodzą fazę juvenilną. Jednak analiza zachowania roślin pochodzących z różnych źródeł jest interesująca ze względu na to, że truskawka a także poziomka są często rozmnażane technikami in-vitro. Wniosek, że najwyższymi parametrami fluorescencji chlorofilu „a” (TFM i AM) i największą zawartością barwników asymilacyjnych w liściach charakteryzowały się rośliny pozyskane ze środowiska naturalnego, jest trafny. Jednak nasuwają się pytania

1. Czy można powiedzieć z czego wynika taka zależność?
2. Dlaczego rośliny z in vitro i z hydroponiki nie różniły się parametrami fizjologicznymi?

Interesujące jest to że amerykańskie gatunki *Fragaria virginiana* i *Fragaria chiloensis* w porównaniu z *Fragaria vesca* charakteryzowały się, wyższymi wartościami parametrów wymiany gazowej. Te informacje wskazują na genetyczne uwarunkowania reakcji fizjologicznej na niektóre parametry fizjologiczne. Podstawiona hipoteza postawiona w tej dysertacji dotyczy reakcji fizjologicznych roślin na niedobór wody. Reakcje ocenianych roślin na niedobór wody był istotnie zróżnicowane, lepszym dostosowaniem do warunków niedoboru

uwilgotnienia podłoża charakteryzowały się rośliny odmian uprawnych ('Rugia', '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.

3. *Z czego może wynikać taka reakcja, jak można by było wykorzystać ten wniosek w praktyce?*
4. *Czy gatunki amerykańskie *Fragaria virginiana* i *Fragaria chiloensis* lepiej reagowały na deficyt wody dlatego, że są gatunkami pierwotnymi, a nie odmianami uprawnymi?*
5. *Czy można powiedzieć dlaczego rośliny pochodzące z in-vitro lepiej znosiły stres suszy?*
6. *Czy nie obserwowano w doświadczeniach zaburzeń w kwitnieniu?*

Bardzo cenny jest wniosek dotyczący wyboru parametrów takich jak wymiana gazowa, zawartość wolnej proliny w liściach, cechy morfometryczne, wielkość plonu owoców oraz masa pojedynczego owocu określający stan fizjologiczny roślin. Myślę że można by dodać do tych parametrów ocenę kwitnienia, np. procent zawiązanych owoców, czy żywotność pyłku. Rośliny bardzo wyraźnie reagują na stres w fazie generatywnej, a w przypadku roślin z rodzaju *Fragaria* jest to kluczowe. Myślę że można ten parametr włączyć do przyszłych badań. Pozostałe oceniane parametry takie jak: zawartość barwników asymilacyjnych w liściach, parametry fluorescencji chlorofilu „a”, względna zawartość wody w liściach, świeża i sucha masa systemu korzeniowego, zawartość pierwiastków oraz stosunek $K:(Ca+Mg)$ w organach roślin według Autorki były mniej wrażliwe na zastosowany poziom deficytu wody i w związku z tym były mniej przydatne do oceny odpowiedzi roślin na deficyt wody w podłożu. Myślę, badania dotyczące tych parametrów powinny być jeszcze rozszerzone w ramach dalszych poszukiwań naukowych, które mam nadzieję doktorantka podejmie w przyszłości. Ponadto z zebranego materiału może powstać kilka cennych naukowo publikacji.

Wniosek końcowy:

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Pani mgr inż. Marty Rokosy zatytułowana

„WPŁYW NIEDOBRU WODY NA STAN FIZJOLOGICZNY WYBRANYCH GATUNKÓW Z RODZAJU FRAGARIA W UPRAWIE WAZONOWEJ, HYDROPONICZNEJ I W KULTURACH IN VITRO” jest zgodna z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668) i Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2018 r., poz. 261), za oryginalne rozwiązanie problemu badawczego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Wniosuję do Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego o dopuszczenie Panią mgr inż. Martę Rokosę do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Kraków dnia 9.09.2022


dr hab. Monika Bieniasz prof. URK



АГРАРЕН УНИВЕРСИТЕТ - ПЛОВДИВ

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

AGRICULTURAL UNIVERSITY - PLOVDIV

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

Prof. dr Małgorzata Mojecka-Berova
Uniwersytet Rolniczy w Płowdiwie
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 wypływające 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.

UCHWAŁA NR 292

**Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
z dnia 7 listopada 2022 r.**

**w sprawie nadania mgr inż. Marcie Rokosie
stopnia doktora**

Na podstawie art. 179 ust. 2 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.

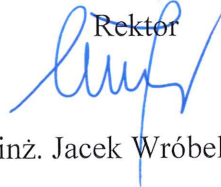
Senat Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie nadaje mgr inż. Marcie Rokosie stopień doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

§ 2.

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

Przewodniczący Senatu

Rektor



dr hab. inż. Jacek Wróbel, prof. ZUT