

prof. dr hab. inż. Joanna Puławska  
Instytut Ogrodnictwa - PIB  
Zakład Ochrony Roślin  
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3  
96-100 Skierniewice

Skierniewice 10.08.2022

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Magdaleny Drobek**  
**„Wpływ wybranych biostymulatorów oraz systemów uprawy na parametry jakościowe owoców truskawek i malin”**

Przedstawiona do recenzji praca wykonana w Instytucie Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego – Polskiej Akademii Nauk w Lublinie pod kierunkiem dr hab. inż. Justyny Cybulskiej, prof. IA PAN dotyczy oceny wpływu systemu uprawy (ekologicznej i konwencjonalnej) oraz biostymulatorów na różne parametry jakościowe truskawek i malin. Zarówno truskawki jak i maliny są popularnymi, zdrowymi owocami, jednak ich produkcja często jest znacznie utrudniona przez zagrażające uprawom choroby i szkodniki. Zwłaszcza choroby powodowane przez patogeny grzybowe wymagają odpowiednich środków zaradczych w tym zabiegów środkami ochrony roślin. Problemy te szczególnie dotyczą upraw ekologicznych gdzie asortyment środków ochrony roślin jest bardzo ograniczony. Z drugiej strony, coraz większa świadomość konsumentów wymusza na producentach zmiany i produkcji owoców bezpiecznych dla spożywającego, najlepiej bez pozostałości pestycydów ale jednocześnie smacznych i bogatych w substancje prozdrowotne. Tutaj z pomocą mogą przyjść biostymulatory, czyli substancje pochodzenia naturalnego, a także mikroorganizmy, które wpływają na naturalne procesy zachodzące w roślinie i mogą wspomagać jej różne cechy m. in. wzrost, plonowanie, odporność na negatywnie wpływające czynniki biotyczne i abiotyczne, a także na jakość owoców.

Przedstawiona do recenzji praca ma formę opublikowanych artykułów naukowych i dwóch dodatkowych rozdziałów. Na rozprawę doktorską Pani mgr Magdaleny Drobek składają



się cztery wieloautorskie prace naukowe opublikowane w latach 2019-2022, oraz dwa rozdziały objęte klauzulą tajności opisujące badania i wyniki jeszcze nieopublikowane. Jeden z opublikowanych artykułów jest pracą przeglądową, nakreśla obecny stan wiedzy na temat istniejących rodzajów biostymulatorów i ich roli w produkcji roślinnej, a przez to stanowi wprowadzenie dla kolejnych trzech oryginalnych prac naukowych i dodatkowych rozdziałów. Anglojęzyczne prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych posiadających współczynnik wpływu IF (Impact Factor) o wartościach IF 3,417; 4,412; 4,298 i 7,514 (sumaryczny IF =19,641). Doktorantka jest pierwszym autorem trzech prac, w czwartej pracy jest drugim autorem, a jej wkład, zgodnie z jej oświadczeniem był we wszystkich publikacjach przeważający i wynosił od 50 do 70%. Dla trzech prac oświadczenie Autorki o poziomie jej udziału nie budzi zastrzeżeń, chociaż w przedstawionej do oceny rozprawie nie ma oświadczeń o udziale procentowym współautorów. Jednak w publikacji oznaczonej jako P4, która ma siedmiu autorów, a mgr M. Drobek jest drugim autorem, Doktorantka określa swój wkład na 50%, czyli największy ze wszystkich. W związku z tym nasuwa się pytanie dlaczego nie jest pierwszym autorem?

Główna część pracy doktorskiej składająca się z opublikowanych artykułów naukowych poprzedzona jest streszczeniem w języku polskim i w języku angielskim, krótkim rozdziałem **Wprowadzenie**, który jest jednocześnie streszczeniem publikacji przeglądowej oznaczonej jako P1 oraz rozdziałem **Założenia badawcze i cel rozprawy doktorskiej**. Drugi z wymienionych rozdziałów obejmuje cztery założenia badawcze, które w większości są poprawnie skonstruowane. Pewne moje wątpliwości budzi treść drugiego i czwartego założenia badawczego. Założenie badawcze, czyli hipoteza z definicji jest przypuszczeniem, niepewnością, którą naukowiec posiada przed zaplanowaniem i wykonaniem badań mających na celu sprawdzenie, czy to przypuszczenie jest zgodne z prawdą czy nie. Trudno nazwać przypuszczeniem założenie nr 2 którego treść brzmi: „*Rozwój mikroorganizmów patogennych wpływa na jakość owoców miękkich, które wytwarzając metabolity wtórne penetrują tkanki owocowe i obniżają czas przydatności owoców do spożycia*”, ponieważ od dawna wiadomo, że patogeny porażają owoce i je niszczą wpływając tym samym na ich jakość oraz to, że jednym z mechanizmów patogeniczności jest produkcja metabolitów wtórnych, w tym np. enzymów pektynolitycznych. Podobnie niewłaściwie jest sformułowane założenie nr 4, którego treść nie jest przypuszczeniem tylko stwierdzeniem. Natomiast **Cel rozprawy doktorskiej** jest jasny, prawidłowo skonstruowany i obejmuje najważniejsze wątki badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej.

Kolejna część to **Omówienie wyników**, w której Doktorantka syntetycznie opisuje wyniki badań opublikowanych w pracach P2 - P4 jak i opisane w dwóch dodatkowych rozdziałach. W publikacji oznaczonej jako P2, mgr M. Drobek skoncentrowała się na analizie wpływu systemu ekologicznego (w dwóch wariantach) i konwencjonalnego uprawy truskawki na wybrane parametry jakościowe owoców w dniu zbioru i podczas przechowywania. Spośród parametrów jakościowych brano pod uwagę te cechy, którymi klienci kierują się podczas zakupów czyli wyglądem owoców, ich wielkością, jędrnością, teksturą a dodatkowo zawartością związków prozdrowotnych jak antocyjany i polifenole oraz innych parametrów wliczając analizę struktury pektyn. Do tego celu w badaniach wykorzystano szereg różnorodnych technik. Doktorantka stwierdziła, że truskawki uprawiane metodami ekologicznymi charakteryzowały się lepszym składem odżywczym i właściwościami sensorycznymi niż te pochodzące z uprawy konwencjonalnej, jednak ich pektyny ulegały szybszemu rozkładowi. W kolejnej publikacji, oznaczonej jako P3, sprawdzano możliwość wykorzystania różnych konsorcjów mikroorganizmów w uprawie truskawki - ich właściwości antagonistycznych w warunkach *in vitro* w stosunku do patogenów truskawki, a także wpływu na wybrane parametry jakościowe (m.in. zawartość cukru, antocyjanów i polifenoli) owoców truskawek uprawianych w doniczkach. Łącznie doświadczenie obejmowało 36 kombinacji, w których rośliny traktowano różnymi patogenami i konsorcjami pożytecznych mikroorganizmów. Wyniki badań *in vitro* pokazują pewne właściwości antagonistyczne mikroorganizmów w stosunku do patogenów ale czy Doktorantka obserwowała różnice w nasileniu objawów chorobowych charakterystycznych dla poszczególnych patogenów między różnymi kombinacjami zakażanymi i niezakażanymi a także traktowanymi lub nie, konsorcjami mikroorganizmów?

W kolejnej pracy (P4) Doktorantka analizowała m.in. struktury pektyn i aktywność enzymów pektynolitycznych w relacji do mikrobiomu truskawek z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej podczas ich przechowywania. Analiza mikrobiomu była wykonywana z zastosowaniem sekwencjonowania nowej generacji (NGS) gdzie najpierw DNA izolowany z próbek truskawek był poddawany amplifikacji ze starterami komplementarnymi do regionu ITS1 grzybów i 16S rRNA V3-V4 bakterii. Regiony te pozwalają na klasyfikację mikroorganizmów do poszczególnych taksonów, natomiast Doktorantka stwierdziła, że „Podczas przechowywania owoców zidentyfikowano również dziesięć rodzajów bakterii wykazujących cechy biokontroli wobec patogenów grzybowych.” W związku z tym moje pytanie na jakiej podstawie wyciągnęła Pani taki wniosek, skoro przynależność do rodzaju, czy nawet gatunku

nie gwarantuje posiadania właściwości biokontroli gdyż jest to cecha charakterystyczna dla poszczególnych szczepów?

Kolejne dwa rozdziały dotyczyły badania wpływu biostymulatorów mikrobiologicznych m.in. na rozwój mikroorganizmów chorobotwórczych, wybrane parametry jakościowe truskawki, oraz profil antyoksydacyjny i aktywność enzymów wpływających na wybrane parametry jakości owoców maliny. Testowanymi biostymulatorami były biopreparaty oparte na mikroorganizmach i substancjach pochodzenia naturalnego. W związku z tym, że przedstawione w tych rozdziałach składy biopreparatów zostaną objęte zgłoszeniem patentowym te dwa rozdziały zostały objęte klauzulą tajności. Badania wykazały pozytywny wpływ wybranych biostymulatorów na zawartość antocyjanów, witaminy C oraz substancji mających wpływ na smak i wybarwienie owoców truskawki oraz właściwości antyoksydacyjne. Chociaż biostymulatory oparte na mikroorganizmach mają potencjał w produkcji roślinnej ze względu na swój różnorodny zakres działania, co jest często związane z produkcją szerokiej gamy metabolitów wtórnych, należy zwrócić uwagę na pewne niebezpieczeństwa związane z ich stosowaniem. W związku z tym, że generalnie bakterie łatwo wymieniają między komórkami materiał genetyczny, mogą sobie przekazywać geny kodujące syntezę różnych substancji, również tych niepożądanych. Mogą w ten sposób nabywać właściwości patogennych w stosunku do różnych gatunków roślin, zwierząt a także dla ludzi. Nawet jeżeli używane szczepy należą do rodzajów/gatunków nieopisywanych jako patogeny, corocznie pojawiają się doniesienia naukowe o odkryciu nowych patogenów roślin należących do gatunków wcześniej nieznanych pod tym kątem. Dodatkowo dużym ryzykiem jest wprowadzanie do środowiska dużej liczby komórek bakteryjnych, jak to ma miejsce w przypadku preparatów mikrobiologicznych, posiadających geny odporności na antybiotyki, zwłaszcza te zlokalizowane na mobilnych elementach genetycznych. Jest to obecnie zagadnienie bardzo istotne w kontekście problemów z leczeniem zakażeń bakteryjnych u ludzi. W związku z tym, moje pytanie do Doktorantki czy używane we wszystkich doświadczeniach opisywanych w rozprawie doktorskiej szczepy były wcześniej badane pod kątem bezpieczeństwa dla ludzi i środowiska?

Polskojęzyczną część rozprawy zamykają rozdziały **Wnioski**, który obejmuje 4 główne punkty. Moje zastrzeżenia budzi ich treść ponieważ mają one charakter raczej podsumowania otrzymanych wyników niż wyciągniętych z nich wniosków. Charakter wniosku ma ostatni akapit tego rozdziału, więc lepiej byłoby nazwać ten rozdział „Podsumowanie i wnioski”.

Praca jest uzupełniona o formę elektroniczną rozprawy doktorskiej, co sobie cenię, gdyż ułatwiło mi to pracę jako recenzentowi.

Podsumowując, przedstawioną do recenzji pracę oceniam bardzo dobrze. Uważam, że rozprawa doktorska mgr M. Drobek stanowi dobrze zaplanowaną i zrealizowaną pracę badawczą. Za szczególnie cenne uważam wieloaspektową analizę wpływu różnych systemów uprawy a także biostymulatorów na parametry jakościowe owoców, co wymagało wykorzystania różnorodnych technik a także analiz statystycznych.

Konkludując, uważam, że przedstawiona do oceny praca odpowiada warunkom stawianym rozprawom doktorskim. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego – Polskiej Akademii Nauk w Lublinie o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Drobek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. inż. Joanna Puławska