

Prof. dr hab. Katarzyna Niemirowicz-Szczytt
Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
SGGW
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Recenzja pracy doktorskiej mgr Gregorio Padula pt. „Effect of selected factors on seed storage of Welsh onion (*Allium fistulosum* L.)”

**Praca wykonana na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu (PULS PhD Studies),
Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii, Rada Naukowa Dyscypliny Rolnictwo
i Ogrodnictwo, promotor prof. dr hab. Roman Hołubowicz**

I. Przebieg pracy naukowo- zawodowej (przebieg pracy, zajmowane stanowiska);

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. „Effect of selected factors on seed storage of Welsh onion (*Allium fistulosum* L.)” została wykonana przez pana Gregorio Padula, pochodzącego z Włoch, pod kierunkiem prof. dr hab. Romana Hołubowicza. Autor pracy był uczestnikiem Anglojęzycznego Studium Doktoranckiego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Wcześniej, w latach (1986-1991) ukończył studia z dyplomem magistra w zakresie produkcji zwierzęcej na Uniwersytecie w Bolonii, Wydział Rolniczy. Nie ubiegał się o stopień doktora. Po odbyciu służby wojskowej (1992-1993), pracował kolejno w ERSO (Instytut Badawczy Roślin Warzywnych i Sadowniczych 1993-1995), firmie CONAD supermarkety odpowiadając za kontrolę jakości plantacji, ochronę roślin, kontrolę jakości po zbiorze (1995-1998). Następnie pracował w firmie CAC gdzie zajmował się zarządzaniem produkcją nasienną włączając w to inspekcję polową i ocenę jakości nasion (1999-2008). Od 2008 roku pracuje jako dyrektor zarządzający w Firmie Nasiennej Tokita Sementi Italia. Zarządza głównymi działaniami firmy, aktywnością doświadczałą, kontrolą jakości nasion a także hodowlą we współpracy z CREA (Włoski Instytut Badań Rolniczych). Jest zatem osobą, która profesjonalnie zajmuje się nasiennictwem i hodowlą roślin.

Wskazanie oraz ocena zastosowanych metod badawczych;

Rozprawa doktorska p.t. „Effect of selected factors on seed storage of Welsh onion (*Allium fistulosum* L.)” autorstwa Gregorio Padula składa się z trzech publikacji naukowych w języku angielskim, które zostały odpowiednio opracowane jako praca doktorska.

Praca składa się zatem z wykazu publikacji, wykazu skrótów, streszczenia, siedmiu rozdziałów opracowania (wstęp, przegląd literatury, hipotezy i cele badań, materiały i metody, streszczenie trzech publikacji, uwagi końcowe, wnioski oraz wykaz cytowanych prac).

W drugim rozdziale zamieszczono przegląd literatury dotyczący : a) charakterystyki botanicznej i klasyfikacji, rozwoju wegetatywnego i fizjologii kwitnienia, uprawy, wyboru odmian, produkcji nasion, jakości nasion, fizjologii nasion i ich zamierania oraz przechowywania nasion. Rozdział ten jest kompendium wiedzy o gatunku.

Układ pracy jest czytelny, logiczny i dobrze zaprezentowany. Wszystkie trzy prace zostały opublikowane, mają podaną punktację MNiSW (łącznie 210) i sumaryczny IF (10).

Wszystkie prace są wieloautorskie, pierwszym autorem jest Gregorio Padula.

Autorzy i tytuły prac są następujące:

- 1) **Gregorio Padula**, Xianzong XIA, Roman Hołubowicz. 2022. Welsh Onion (*Allium fistulosum* L.) Seed Physiology, Breeding, Production and Trade. *Plants* 11:343-356.
Punktacja MNiSW ₂₀₂₁:70, IF₂₀₂₂:4.5
- 2) **Gregorio Padula**, Xianzong XIA, Dorota Szopińska, Roman Hołubowicz. 2022. Effect of air temperature and relative humidity on the stored Welsh Onion (*Allium fistulosum* L.) seeds. *Not. Bot. Horti Agrobot.* 50, 4:12956.
Punktacja MNiSW ₂₀₂₁:40, IF₂₀₂₂:1.8
- 3) **Gregorio Padula**, Anca Macovei, Adriano Ravasio, Andrea Pagano, Conrado Jr Duenas, Xianzong XIA, Roman Hołubowicz, Alma Balestrazzi. 2024. Exploring Reactive Oxygen Species Accumulation in *Allium fistulosum* L. Seeds Exposed to Different Storage Conditions. *Seeds* 3, 1.:123-132.
Punktacja MNiSW ₂₀₂₁:100, IF₂₀₂₂:3.7

Piśmiennictwo do pracy zostało dobrane właściwie, jest aktualne i bogate (6 stron).

Wykazano prace zarówno polskich autorów jak i z innych krajów, w tym znaczący udział prac chińskich i japońskich.

Celem badań było określenie wpływu temperatury powietrza i jego wilgotności względnej (RH) na cechy jakościowe nasion cebuli siedmiolatki. Dodatkowym zadaniem było określenie zużycia energii elektrycznej przy zastosowanych temperaturach przechowywania.

Testowano dwie hipotezy: 1) wilgotność nasion cebuli siedmiolatki poniżej 10% oraz kontrola wilgotności względnej powietrza umożliwi (bez utraty jakości) ich skuteczne przechowywanie przez okres 30 miesięcy, 2) gromadzenie wysoce reaktywnych form tlenu (ROS) w nasionach cebuli siedmiolatki przechowywanej przez 12 i 22 miesiące jest ograniczone w warunkach określonej temperatury powietrza i jego RH.

Materiały i metody badawcze

Materiały i metody badawcze przedstawiono w IV rozdziale opracowania oraz częściowo w streszczeniach publikacji.

Bardzo ważny i wartościowy jest wybór 14 odmian i linii do badań. Są to zarówno odmiany typu populacyjnego z wolnego zapylenia jak również odmiany mieszańcowe (F₁) a nawet linia wsobna (MS). Odmiany pochodzą głównie z Japonii (11), jak również z Niderlandów (2) i Korei (1). Pokazuje to, że Japonia ma zaawansowaną hodowlę odmian badanego gatunku. Nasiona wykorzystane w doświadczeniach były wyprodukowane we Włoszech (6), Chile (5) i Płd. Afryce (2). Są to kraje o optymalnych warunkach atmosferycznych dla produkcji nasion tego gatunku.

Badania wykonano w terminie od kwietnia 2018 roku do lutego 2021 roku. W ocenie jakości nasion zastosowano metody Międzynarodowego Stowarzyszenia Testowania Nasion (ISTA). Nasiona 14 genotypów (odmian i linii), pochodzących z różnych części świata, przechowywano w komorach klimatyzacyjnych o kontrolowanej temperaturze i wilgotności względnej (RH). Nasiona przechowywano w sześciu kombinacjach, trzech temperaturach (7.5 °C, 10 °C, 25 °C) i dwóch typach (25% i 45%) wilgotności względnej (RH) w specjalnie dostosowanych do tego komorach klimatyzowanych.

Test kiełkowania nasion odbywał się zawsze tak samo. Nasiona były chłodzone w temperaturze 5 °C przez 4 dni. Następnie każda kombinacja była układana na duże płytki Petriego (9 cm) w czterech powtórzeniach po 50 nasion na 6 warstwach bibuły. Płytki były umieszczane w 20 °C, 16 godz. na świetle i 8 godz. w ciemności. Pierwsza ocena kiełkowania miała miejsce po 6 dniach a ostatnia po 12 dniach. Zakres tych badań był rozległy.

Po pierwszym i drugim roku przechowywania wykonano analizę mykologiczną nasion (nasiona przechowywano w temp. 7-8 °C oraz 25 °C, wilgotności 25% RH).

Analiza dotyczyła jednej próby nasion (TSITGH03) wyprodukowanych w szklarni, w warunkach kontrolowanych (odpowiednia ochrona) i optymalnych. Do analizy mykologicznej pobierano po 400 nasion (4 powtórzenia po 100 nasion), które wykładano na pożywkę PDA do płytek Petriego (9cm, 10 nasion na płytkę) i inkubowano 20 °C przez 10 dni w cyklu 12 godzinnym. Do pożywki dodano siarczan streptomycyny aby zatrzymać rozwój bakterii. Na podstawie wyglądu określono zasiedlenia nasion przez kolonie grzybów i ich zarodnikowanie. Dodatkowo określono procent nasion nie zasiedlonych przez grzyby.

Do badania kumulacji ROS zastosowano test DCFH-DA i oznaczono metodą spektroskopii fluorescencyjnej. Zastosowano metodę opisaną przez Pagano, zacytowaną w publikacji (Kurek i in. 2019) z własnymi modyfikacjami.

Do oceny wyników kiełkowania i testu na obecność grzybów obliczono wariancję i zastosowano test Duncana. Do analiz ROS zastosowano analizę korelacji.

Metody dobrano prawidłowo do realizacji celu badań

Ocena omówienia wyników badań;

Wyniki badań zostały omówione w rozdziale V, w którym streszczono publikacje. Pierwsza z omawianych publikacji pt. „Welsh Onion (*Allium fistulosum* L.) Seed Physiology, Breeding, Production and Trade.” Dotyczy przeglądu literatury na temat fizjologii nasion, hodowli, produkcji, pozyskiwania i przechowywania nasion. W przypadku streszczenia publikacji omówienie jest krótkie i zwięzłe (3 str.). Natomiast w rozdziale II pt. ‘Przegląd literatury’ zagadnienia są pogłębione (11 str.). W przeglądzie literatury wyjaśniono potrzebę wykonania badań postawionych w celu pracy. Zagadnienia te są ważne dla nasiennictwa zarówno krajowego jak i międzynarodowego, gdyż nasiona badanego gatunku bez zastosowania odpowiednich warunków temperatury i wilgotności względnej RH można przechowywać krótko (6-12 miesięcy), szybko tracą siłę kiełkowania. Koszt odpowiedniego przechowywania jest wysoki.

Powierzchnia uprawy cebuli siedmiolatki ulega powiększeniu. Największa jest w Azji, w Chinach (powyżej 500 tys. ha), w Japonii i Korei (ok.25 tys. ha w każdym z tych krajów).

W Europie największa powierzchnia uprawy jest w Niemczech (1300 do 1400 ha). W Afryce produkuje się najwięcej w Egipcie (4 tys. ha), Senegal (1200-1300 ha) i w Maroku (350-400 ha). Produkcja w Afryce jest przeznaczana w dużej części na rynki Europy. W USA i

Meksyku wykorzystuje się mieszańce *A. fistulosum* z *A. cepa*. Mają one większy wigor i lepiej rosną w wysokich temperaturach. Zbiory pędów odbywają się nawet trzy razy do roku.

W drugiej pracy pt. "Effect of air temperature and relative humidity on the stored Welsh Onion (*Allium fistulosum* L.) seeds." przedstawiono wyniki takich parametrów jak kiełkowanie, wigor nasion i rozwój grzybów, w różnych warunkach temperatury powietrza i wilgotności RH w czasie przechowywania nasion.

Wszystkie próby nasion, przed rozpoczęciem doświadczenia miały zdolność kiełkowania powyżej 90% i wilgotność nasion wynosiła 7-8%. Były przechowywane przez 30 miesięcy w kontrolowanych warunkach w trzech temperaturach (7-8 °C, 10 °C, 25°C) oraz w dwóch różnych wilgotnościach względnych powietrza (25 % i 45%). Jakość nasion była kontrolowana zgodnie z zaleceniami ISTA. Dodatkowo nasiona po roku i dwóch latach były kontrolowane na obecność grzybów.

Dodatkowo sprawdzono zużycie energii elektrycznej dla wszystkich typów przechowywania.

Stwierdzono, że wszystkie próby nasion dobrze przechowywały się w temperaturze 7-8 °C oraz w temperaturze 10 °C. Jeśli chodzi o wilgotność powietrza w czasie przechowywania przez 30 miesięcy parametry jakości nasion były lepsze przy RH 45% niż przy 25%. Były również próby, które dały taki sam wynik w obu kombinacjach wilgotności. Tylko jedna kombinacja lepiej kiełkowała po przechowaniu przez 30 miesięcy w wilgotności RH 45% niż w wilgotności 25%. Autor uważa, że wynik dotyczący RH potwierdza wcześniejsze wyniki innego badacza (Dojjode, 2001), który wykazał, że wilgotność 35% jest najlepsza dla nasion roślin cebulowych.

Koszty energii elektrycznej wydatkowane dla przechowywania w temperaturze 10 °C były niższe o 11,2% niż przy przechowywaniu w temperaturze 7-8 °C. Jest to ważny wynik dla firm hodowlano-nasiennych zajmujących się przechowywaniem nasion *Allium fistulosum*, gdyż pozwala na oszczędności przy przechowywaniu w 10 °C.

W przypadku badań mykologicznych, przechowywanie nasion przez dwa lata w temperaturze 7-8 °C powodowało większy udział kolonii *Penicillium* spp. i *Phoma* sp. niż w temperaturze 25 °C. Natomiast w temperaturze 25 °C nasiona były zasiedlane w większym stopniu przez grzyby z rodzaju *Cladosporium* spp. oraz *Fusarium* spp.

W trzeciej pracy pt. „Exploring Reactive Oxygen Species Accumulation in *Allium fistulosum* L. Seeds Exposed to Different Storage Conditions.” przeprowadzono dokładne analizy po 12 i 22 miesiącach. Stan nasion po 12 miesiącach przechowywania uznano jako czas „0” i porównano do stanu po 22 miesiącach przechowywania.

Wykazano negatywne powiązanie ROS z procentem kiełkowania nasion a ponad to analiza korelacji pokazała, że produkcja ROS zależała od genotypu. Wskazano również, że kombinacja określonych warunków przechowywania (25 °C, 25%RH; 25 °C, 45%RH; 10 °C, 25%RH; 7.5 °C, 25%RH) miała mniejszy wpływ na starzenie się nasion.

W przypadku badania akumulacji ROS wykazano, że jest to skuteczna strategia oceny niewłaściwego przechowywania nasion.

Ocena merytoryczna pracy

W ocenie całości chciałabym podkreślić wysoki poziom merytoryczny pracy. Cele pracy były ambitne. Przygotowano i zrealizowano wartościowe założenia eksperymentalne. Praca składa się z trzech publikacji w języku angielskim i obszernego opracowania również, w języku angielskim, które wskazuje, że praca stanowi całość. Wyniki pracy mogą być zastosowane w nasiennictwie *Allium fistulosum* bezpośrednio przez firmy nasienne i producentów.

Podsumowanie

Uważam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Gregorio Padula pt. „Effect of selected factors on seed storage of Welsh onion (*Allium fistulosum* L.)”

jest wartościowa, zawiera prawidłowo udokumentowane wyniki i świadczy o tym, że Doktorant zna doskonale tematykę związaną z metodami i technikami stosowanymi w nowoczesnym nasiennictwie.

Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego dotyczącego czynników wpływających na długość przechowywania nasion *Allium fistulosum*.

W pracy bardzo dobrze naświetlono ogólną wiedzę teoretyczną jak i czynniki mające wpływ na przechowywanie nasion roślin cebulowych, a zwłaszcza cebuli siedmiolatki.

Doktorant jest pierwszym autorem we wszystkich trzech pracach, które zostały wykonane przez zespół osób. Napisał również opracowanie ogólne. Język angielski pracy jest prawidłowy.

Doktorant jest profesjonalnie związany z nasiennictwem we Włoszech od wielu lat, pracuje jako dyrektor zarządzający w firmie Tokita Sementi Italia.

Stwierdzam, że oceniana praca spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim i wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwa i Ogrodnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie mgr Gregorio Padula do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuję również o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Gregorio Padula, gdyż praca ma znaczenie nie tylko dla nasiennictwa w Polsce, ale dla wszystkich krajów produkujących i przechowujących nasiona *Allium fistulosum*. Pokazuje jak można udoskonalić przechowywanie nasion i sprawdzać jakość przechowywania nasion różnymi metodami.

Warszawa, 2025-01-10


prof. dr hab. Katarzyna Niemirowicz-Szczytt