

prof. dr hab. Jerzy Puchalski

Warszawa, 12 listopada 2020 r.

profesor zwyczajny

Polska Akademia Nauk

Ogród Botaniczny – Centrum Zachowania

Różnorodności Biologicznej

w Warszawie – Powsinie

Recenzja Pracy Doktorskiej

Pani mgr Izabeli Szymborskiej – Sandhu

pt. „ Charakterystyka rozwojowa i chemiczna miodownika melisowatego

(*Melittis melissophyllum* L.) w warunkach jego uprawy ”

wykonanej w Instytucie Nauk Ogrodniczych SGGW w Warszawie

Ocena formalna

Przedstawiona do recenzji praca doktorska wykonana została w Katedrze Roślin Warzywnych i Leczniczych SGGW pod kierunkiem Pani Dr hab. Katarzyny Bączek jako promotora wraz z udziałem Pani Dr Olgi Kosakowskiej pełniącej rolę promotora pomocniczego. Jako rozprawę doktorską przedstawiono 3 oryginalne prace naukowe oraz opracowanie w formie autoreferatu podsumowującego załączone prace wraz z wymaganą dokumentacją zawierającą oświadczenia wszystkich autorów tych prac i życiorys naukowy Doktorantki.

Taka forma prezentacji prac doktorskich jest od kilku lat zalecana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Włączone do rozprawy doktorskiej prace zawierają wyniki badań wykonanych w ostatnich 5 latach i zostały opublikowane w bieżącym 2020 roku. We wszystkich trzech pracach Pani mgr Izabela Szymborska – Sandhu jest pierwszym autorem. Zgodnie z załączonymi oświadczeniami współautorów Jej udział w 2 wspólnych pracach był wiodący i dominujący, wynoszący odpowiednio 65% oraz 60%, a w trzeciej załączonej pracy Doktorantka była jedynym autorem. Zdaniem recenzenta jest to spełnienie w sposób wystarczający warunku stawianego autorom prac doktorskich. Dwie prace zostały opublikowane w

czasopiśmie naukowym „Molecules” jako prace zbiorowe przygotowane przez 6 lub 5 autorów. Jest to bardzo renomowane czasopismo naukowe z zakresu chemii, zawierające wiele artykułów na temat chemii produktów naturalnych, wydawane w Szwajcarii przez Molecular Diversity Preservation International (MDPI). Czasopismo to jest zaliczane do najwyższej grupy czasopism w swojej dziedzinie i znajduje się w tzw. I kwartylu Q1. Posiada również wysokie wskaźniki cytowalności. Według bazy Web of Science wskaźnik wpływu za rok 2019 wynosi $IF = 3,267$ (za ostatnie pięć lat $IF = 3,589$). Jeszcze wyższą wartość naukometryczną czasopismo „Molecules” wykazuje w bazie Scopus. Wskaźnik cytowalności CiteScore wynosi aż 4,1 co jest wartością bardzo wysoką. W ostatniej kategoryzacji czasopism naukowych MNiSzW z roku 2019 za publikacje w tym czasopiśmie przyznawane jest 100 punktów. Trzecia praca została opublikowana w języku angielskim w krajowym czasopiśmie naukowym „Herba Polonica” zamieszczającym głównie prace na temat roślin leczniczych i aromatycznych. Nie jest ono włączone do bazy JCR, ale znajduje się na liście kategoryzowanych czasopism naukowych MNiSzW – według ostatniej kategoryzacji z roku 2019 za artykuły tam publikowane przysługuje 20 pkt. Łącznie za publikacje, przedstawione jako praca doktorska, Pani mgr Izabela Szymborska – Sandhu uzyskuje 220 punktów MNiSzW, a ich tzw. sumaryczny wskaźnik wpływu IF wynosi 6,534 (lub 7,198 za ostatnie 5 lat). Należy to uznać za bardzo dobry i wysoki wskaźnik wartości naukowej tych prac. Pani mgr Izabela Szymborska - Sandhu jest także współautorem w trzech innych oryginalnych pracach naukowych: w czasopiśmie z listy JCR „International Journal of Analytical Chemistry” ($IF = 1,479$) i w dwóch spoza tej listy: „Herba Polonica” i „Acta Horticulturae”. Cały dotychczasowy dorobek naukowy Doktorantki ocenić należy wysoko w postaci 264 punktów MNiSzW oraz jako sumaryczny współczynnik wpływu $IF = 8,013$ (lub 8,665 za 5 lat). Według bazy Scopus prace Doktorantki mają 4 cytowania, dzięki czemu ma Ona już wskaźnik cytowań według Hirscha $h = 1$. Bardzo wysoko należy także ocenić pozostałą działalność naukową Doktorantki. Uczestniczyła Ona w 2 projektach badawczych NCN i brała udział w realizacji 2 projektów w programach Ministerstwa Rolnictwa oraz w jednym zleceniu w unijnym projekcie PARP. Należy też z uznaniem podkreślić Jej wysoką aktywność przy prezentowaniu wyników badań na konferencjach i kongresach naukowych, gdzie była współautorem 3 referatów i 6 posterów.

Ocena merytoryczna

Wszystkie trzy publikacje włączone do rozprawy doktorskiej stanowią zwarty zestaw prac naukowych poświęconych badaniom nad gromadzeniem się związków biologicznie aktywnych w roślinach miodownika melisowatego uprawianego *ex situ* w kontrolowanych i zróżnicowanych warunkach natężenia światła słonecznego. Zagadnienie to było badane w sposób kompleksowy z uwzględnieniem parametrów fizjologicznych, morfologicznych i rozwojowych tego gatunku. Badania obejmowały bardzo szeroki zakres analiz chemicznych dużej grupy związków o znaczeniu leczniczym oraz aromatycznych: związków fenolowych i olejków eterycznych, w różnych organach miodownika melisowatego. Wybór tego gatunku, jako obiektu badawczego, należy uznać za bardzo interesujący. Jest to znana roślina lecznicza o bardzo szerokim zakresie stosowania, a także roślina aromatyczna będąca źródłem olejków eterycznych używanych do celów przyprawowych produktów spożywczych i kosmetyków. Miodownik melisowaty jest bardzo ważnym elementem naturalnej flory Europy, gdyż występuje tylko na tym kontynencie. W Europie Centralnej i Wschodniej obserwuje się zmniejszanie liczby stanowisk i populacji tej rośliny z powodu nadmiernego zbioru ziela. W niektórych krajach uznawany jest nawet za roślinę zagrożoną. W Polsce gatunek ten objęty jest częściową ochroną prawną w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z roku 2014, gdyż należy go uważać za rzadki gatunek naszej rodzinnej flory o ograniczonym zasięgu występowania. Wszystkie trzy publikacje włączone do rozprawy doktorskiej zostały opublikowane po recenzjach merytorycznych i trudno jest się odnosić szczegółowo do ich treści i formy. Dlatego też w recenzji oceniona zostanie głównie wartość poznawcza i praktyczna przedstawionych wyników w każdej z tych publikacji.

Publikacja A : „ Efect of Shading on Development, Yield and Quality of Bastard Balm Herb (*Melittis melissophyllum* L.) I. Szymborska – Sandhu, J.L.Przybył, E. Pióro – Jabrucka, A. Jędrzejuk, Z. Węglarz, K.Bączek, *Molecules* 2020, 25, 2142; doi : 103390/ molecules 25092142.

Publikacja ta była poświęcona badaniom nad gromadzeniem się bardzo dużej grupy związków chemicznych: flawonoidów, kwasów fenolowych i kumaryn w trakcie rozwoju fenologicznego miodownika oraz cech morfologicznych mających znaczenie

plonotwórcze w warunkach ograniczonego dostępu światła słonecznego. Materiałem do badań były rośliny miodownika melisowatego pochodzące z rozsady uzyskanej z nasion zebranych na naturalnym stanowisku w Polsce Wschodniej. Porównany został wpływ światła przy dwóch poziomach ograniczenia dostępu: o 30% i 50%, oraz w kontroli przy pełnym oświetleniu. W dwóch fazach rozwoju roślin - w pełni kwitnienia oraz po zawiązaniu nasion, oceniono wybrane cechy morfologiczne oraz analizowano skład związków fenolowych. Stosując technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC wykryto aż 12 różnych związków fenolowych. Bardzo interesujące wyniki uzyskano przy analizie kumaryny i jej pochodnych, decydujących o wartości aromatycznej tej rośliny. Najwyższą zawartość tych związków wykryto w roślinach uprawianych przy częściowym zacienieniu o 30%. Odwrotnie natomiast następowało gromadzenie się flawonoidów i kwasów fenolowych wpływających na wartości lecznicze tej rośliny, które było najwyższe przy pełnym świetle. Za bardzo interesujący wynik badań w tej pracy należy uznać stwierdzenie istotnej roli zawartych w miodowniku melisowatym związków fenolowych w łagodzeniu skutków stresu świetlnego. Zagadnienie to zbadano bardzo szeroko poprzez analizę aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów roślinnych, zawartości nadtlenu wodoru i dwualdehydu malonowego MDA oraz aktywności dwóch enzymów oksydoredukcyjnych: katalazy i oksydazy polifenolowej. Zamieszczone w tej pracy wyniki mają duże znaczenie poznawcze, gdyż po raz pierwszy badania te prowadzono w kontrolowanych warunkach *ex situ*. Z dużym uznaniem należy przyjąć tak szeroki zakres badań fizjologicznych, morfologicznych i chemicznych, które pozwoliły na pełną charakterystykę związków biologicznie aktywnych w zróżnicowanych warunkach rozwojowych. Wyniki tych badań mają także duże znaczenie praktyczne dla opracowania warunków uprawy miodownika melisowatego w zależności od celu jego wykorzystania, jako rośliny leczniczej lub aromatycznej.

Publikacja B: "Development and chemical characteristics of *Melittis melissophyllum* L. in limited access of sunlight", I. Szymborska - Sandhu, "Herba Polonica" 2020; 66 (1): 1 - 8. DOI: 10.2478 / hepo - 2020-0003

Badania w tej publikacji były kontynuacją i uzupełnieniem prac przedstawionych w poprzedniej Publikacji A. Zastosowany został analogiczny cykl doświadczalny, ale wykorzystano materiał roślinny o innym pochodzeniu oraz rozszerzono zakres

badania cech morfologiczno - rozwojowych i faz wegetacyjnych. Bardzo interesujące było wykorzystanie do badań roślin uzyskanych przez mikropropagację w kulturach *in vitro*, co zapewniało dobre wyrównanie materiału badawczego. W części chemicznej badań skupiono się na analizie chromatograficznej kumaryny jako wskaźnika jakości aromatycznej ziela. Podobnie, jak w poprzedniej publikacji, potwierdzono istotną rolę warunków uprawy w częściowym zaciemnieniu na gromadzenie się w roślinach flawonoidów i kwasów fenolowych, a zwłaszcza kumaryny. Wyniki te odnoszono do intensywności fotosyntetycznej oraz warunków klimatycznych w czasie sezonu wegetacyjnego - średniej temperatury miesięcznej i sumy opadów. Stwierdzono, że zaciemnienie o 30% miało istotny wpływ na długość pędów i świeżą masę ziela. Bardzo interesujące wyniki w tym zakresie uzyskano odnośnie tworzenia nasion w tych zróżnicowanych warunkach oświetlenia. Otóż przy zaciemnieniu o 30% bardzo istotnie wzrastała liczba tworzonych rozłupni oraz rozłupków z nasionami w stosunku do roślin kontrolnych uprawianych w pełni nasłonecznienia, jak i przy ograniczeniu dostępu światła o 50%. Wyniki tych badań potwierdziły, że częściowe zaciemnienie roślin (o 30%) w czasie całego okresu wegetacyjnego ma bardzo korzystny wpływ na masę uzyskiwanego ziela i na zawartość aromatycznych kumaryn. Natomiast uprawa w pełnym świetle jest korzystna dla gromadzenia się innych związków: flawonoidów i kwasów fenolowych. Innym nowym i interesującym wynikiem tych badań było stwierdzenie, że zawartość kwasów fenolowych i flawonoidów u roślin była najwyższa pod koniec wegetacji, a nie jak dotychczas sądzono, w fazie kwitnienia. Jest to cenna wskazówka dla zbioru miodownika melisowatego jako ziela na cele lecznicze.

Publikacja C: "Chemical Diversity of Bastard Balm (*Melittis melisophyllum* L.) as Affected by Plant Development " I. Szymborska - Sandhu, J.L. Przybył, O. Kosakowska, K. Bączek, Z. Węglarz, *Molecules* 2020, 25, 2421: doi : 10.3390/molecules 25102421.

Publikacja ta zawiera wyniki badań nad zawartością związków aktywnych biologicznie w różnych organach miodownika melisowatego w trzech fazach rozwojowych roślin o różnym wieku. Na podstawie badań przedstawionych w poprzednich dwóch publikacjach badano rośliny w czterech kolejnych latach, od pierwszego do czwartego sezonu uprawy w jednym wybranym wariantcie zaciemnienia o 30%. Stosując technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC – DAD

określono skład i zawartość związków fenolowych w całych roślinach (jako ziela) o różnym wieku oraz dla roślin 3 – letnich w czterech organach: kwiatach, liściach, pędach i korzeniach. Natomiast w kwiatach i liściach tych samych roślin techniką chromatografii gazowej określono skład olejków eterycznych. Należy z uznaniem przyjąć wykonanie w tak kompleksowy sposób charakterystyki chemicznej miodownika melisowatego. Wskazane zostały dominujące związki fenolowe : glukozyd-7-O-luteoliny, werbaskoza, kwas chlorogenowy i kumaryna. Ciekawym wynikiem badań było stwierdzenie, że najwyższa zawartość flawonoidów i kwasów fenolowych występuje u roślin 2-letnich, natomiast kumaryny u starszych 4-letnich roślin. Są to ważne wyniki dla przygotowania skutecznych metod uprawy i zbioru miodownika melisowatego przeznaczonego do celów leczniczych lub przyprawowych jako rośliny aromatycznej. Interesującym wnioskiem było, iż wyniki badań nad zawartością kumaryny są bardzo podobne, jak dla innego znanego źródła tych związków – turówki leśnej.

Podsumowując te trzy prace należy podkreślić ich nowatorski charakter o silnym znaczeniu poznawczym, jak i praktycznym. Dotychczasowa wiedza o biologii rozwoju oraz składzie chemicznym związków czynnych biologicznie u miodownika melisowatego nie była w pełni znana. Inne badania opierały się głównie na roślinach pozyskiwanych ze stanu naturalnego i nie były poparte tak szerokimi analizami chemicznymi. Można uznać, że zaprezentowane w pracy doktorskiej badania wniosą istotny wkład w opracowanie najkorzystniejszych metod uprawy i zbioru tej rośliny, która dotychczas była pozyskiwana tylko ze stanowisk naturalnych. Uprawa *ex situ* przyczyni się do ochrony naturalnych stanowisk, które w ostatnich latach ulegają niekorzystnym zmianom. Wyniki badań, prezentowane w pracy doktorskiej, mogą mieć także znaczenie dla biologii konserwatorskiej tego gatunku. W Polsce miodownik melisowaty nie jest jeszcze uznawany za roślinę zagrożoną wymieraniem na naturalnych stanowiskach, ale takie zjawisko obserwuje się w krajach sąsiednich. Zaprezentowane wyniki badań dają możliwość opracowania metod uprawy tego gatunku w warunkach *ex situ* , a następnie restytucji na wymarłe lub zubożone stanowiska naturalne przez reintrodukcję lub metaplantację.

Oprócz 3 publikacji w skład pracy doktorskiej wchodzi opracowanie w formie autoreferatu mającego na celu wprowadzenie do przedmiotu badań oraz podsumowanie uzyskanych wyników. Nie jest to dodatkowa publikacja, ale ponieważ

to opracowanie dołączono do pracy doktorskiej to w recenzji postanowiono się odnieść do jego formy i treści. Opracowanie napisane zostało na 31 stronach i zawiera ono typowe części, jak przy monograficznych pracach doktorskich. Pierwszą częścią jest dość obszerny, napisany na 7 stronach, „Przegląd literatury” odnoszący się do przedmiotu badań, jakim był miodownik melisowaty. W sposób zwięzły, ale z bardzo pełnymi informacjami, opisano występowanie miodownika melisowatego w środowisku naturalnym, jego systematykę i charakterystykę rozwojową, zagrożenie w środowisku naturalnym, a także jego znaczenie jako surowca zielarskiego – źródła związków biologicznie aktywnych oraz wykorzystanie jako rośliny leczniczej lub aromatycznej. Ten krótki przegląd literatury stanowił doskonale wprowadzenie do prezentowanych badań. Kolejne części to „Cel i hipotezy badawcze” oraz „Materiał i metody” wraz z zakresem prac w prezentowanych trzech publikacjach. Przedstawiono to w formie zwięzłej, ale wystarczająco informacyjnej, na 7 stronach. Szczegółowsze opisy metod badawczych znalazły się w 3 publikacjach. Podstawową częścią opracowania było „Omówienie wyników” napisane na 7,5 strony. W sposób bardzo konkretny przedstawiono wyniki badań ze wszystkich trzech prac, które połączono z dobrze napisaną dyskusją. Kolejne typowe części opracowania to zestawienie zbiorcze wniosków oraz spis literatury liczący 80 pozycji. Taka forma i treść opracowania stanowi bardzo dobre przedstawienie całości badań zamieszczonych w pracy doktorskiej. W opracowaniu znaleziono bardzo niewielką liczbę nieścisłości lub błędów. Recenzent poprawił je na załączonej kopii opracowania. Ponieważ praca doktorska zawierająca to opracowanie będzie dostępna w Bibliotece SGGW, to może warto wnieść odpowiednie poprawki. Zdaniem recenzenta może należałoby zmienić tytuł części 5 na: „Omówienie wyników i dyskusja”. Ważnym błędem na stronie 11 jest napisanie: oksydazy ponadtlenkowej (PPO), a powinno być oksydazy polifenolowej, która była objęta badaniami. Przepuszczalnie pomyłono to z dysmutazą ponadtlenkową (SOD), której nie analizowano w badaniach. Na określenie objętości Autorka używa skrótu mL, a powinno być ml. Na stronie 17 użyto terminu absorbancja, ale w języku polskim przyjętą się termin absorbcja. W tekście opracowania poprawiono także pewną liczbę błędów interpunkcyjnych. Te drobne uwagi w żadnym stopniu nie umniejszają wartości opracowania, które jest napisane w sposób bardzo przejrzysty i pomimo zwięzłej formy doskonale prezentujący cały przedmiot pracy doktorskiej.

Podsumowując należy z dużym uznaniem przyjąć zaprezentowane w pracy doktorskiej Pani mgr Izabeli Szymborskiej – Sandhu badania, jak również Jej dotychczasowy dorobek naukowy. Badania te wnoszą ważny wkład w poznanie biologii i charakterystyki chemicznej miodownika melisowatego i przynoszą jednocześnie istotne praktyczne informacje dla wykorzystania tego gatunku jako nowej roślin uprawnej do celów leczniczych lub jako cennego źródła związków aromatycznych. Bardzo dobre wskaźniki naukometryczne w postaci punktów MNiSzW oraz sumarycznego wskaźnika upływu IF wskazują na dobry potencjał badawczy Doktorantki. Za bardzo cenny wskaźnik, jak dla młodego uczonego, należy uznać uzyskanie pierwszego wskaźnika cytawalności według Hirsha $h = 1$. Taki dorobek Doktorantki stwarza bardzo dobre perspektywy Jej dalszego rozwoju naukowego.

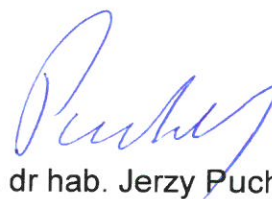
Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę dużą wartość naukową zaprezentowanych w pracy doktorskiej Pani Izabeli Szymborskiej – Sandhu badań, potwierdzoną wysokimi wskaźnikami naukometrycznymi publikacji, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie Jej do dalszych etapów postępowania o uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w dziedzinie rolnictwo i ogrodnictwo. Przedstawiona praca doktorska całkowicie spełnia warunki stawiane takim pracom w art.13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.nr 65,poz.595 z późn. zmianami – tekst jednolity Dz.U. z 2019 r., poz.1789) oraz w art. 179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz.1669)

prof. dr hab. Jerzy Puchalski

Wniosek dodatkowy

W związku z wyjątkowo dużą wartością naukową zaprezentowanych w pracy doktorskiej publikacji oraz istotną wartością poznawczą i praktyczną wyników badań zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo o rozpatrzenie możliwości wyróżnienia pracy doktorskiej Pani mgr Izabeli Szymborskiej – Sandhu w stosowanej przez Radę Dyscypliny formie.



prof. dr hab. Jerzy Puchalski