

Prof. dr hab. Tadeusz Zając
Instytut Produkcji Roślinnej - Zakład Szczegółowej Uprawy Roślin
Uniwersytet Rolniczy im Hugona Kołłątaja w Krakowie
al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Macieja Maciejewskiego pt. „**Reakcja wybranych gatunków roślin bobowatych na zasolenie**”; wykonanej w Instytucie Fizjologii Roślin im. F. Górskiego Polskiej Akademii Nauk w Krakowie; w Studium Doktoranckiego Nauk Przyrodniczych PAN w Krakowie. Wykonana dysertacja doktorska powstała w oparciu o środki finansowe projektu badawczego COST nr 813/N-COST/2010/, co jest wspólnym osiągnięciem promotorów i doktoranta. Na podkreślenie zasługuje fakt opublikowania przez Doktoranta jako współautora, kilku wartościowych prac, ogłoszonych w czasopiśmie z listy A, a także uczestnictwo w sprawozdaniach i raportach z przeprowadzonych badań.

Eksplozja demograficzna w skali świata, która miała miejsce w XX wieku i trwa nadal, przekłada się na gwałtowny wzrost liczby ludności na Ziemi, co powoduje konieczność nieustannego zwiększenia produkcji surowców i płodów roślinnych, nieodzownych do produkcji żywności, tak pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. Antycypacja potrzeb żywnościowych ludności wymusza podejmowania nowych inicjatyw przez naukę i praktykę rolniczą, aby sprostać zapotrzebowaniu zgłaszanemu przez konsumentów. Należy podkreślić fakt że produkcja żywności pochodzenia roślinnego wymaga mniejszego areалу w porównaniu do produkcji żywności pochodzenia zwierzęcego. Jednak odczuwalny brak żywności z obydwu źródeł, prowadzi do niekorzystnych procesów społecznych, poczynając od umieralności ludzi, zwłaszcza dzieci wywołanej niedożywieniem oraz pojawieniem się uchodźstwa klimatycznego, który to proces napędza migrację ludności z obszarów niedoboru żywności do miejsc jej relatywnego dostatku. W zaistniałych warunkach, miejscowe rolnictwo jako ważny dział gospodarki narodowej każdego państwa, zmuszone jest do znaczącego zwiększenia produkcji roślinnej, z równoczesnym utrzymaniem jej stabilności w latach, które odznaczają się niestabilną pogodą.

Szacuje się że w skali globalnej, zwiększanie produkcji żywności w 80% będzie oparte o wzrost plonowania z jednostki powierzchni. Na tej drodze stymulatorami wzrostu plonowania roślin uprawnych, w tym również rolniczych, nieodzowne są przemysłowe środki produkcji, będące czynnikami plonotwórczymi i plonochronnymi, w ramach wypracowanych agrotechnologii. Dalsze 20 % pochodzić będzie z nowo zagospodarowanej powierzchni,

dotychczas pozostającej we władanie lasów, użytków trawiastych (step, preria). Wyrąb deszczowych lasów tropikalnych na potrzeby rolnictwa, tak intensywny obecnie w Brazylii, jest kontestowany przez duże grupy społeczne w wielu krajach. Aktualnie rolnictwo użytkuje 11% powierzchni globu dla produkcji żywności, natomiast według szacunków może dojść do wzięcia 14% powierzchni na potrzeby produkcji roślinnej, związanej z potrzebami żywnościowymi ludności. Należy podkreślić fakt, że znacząca część produkcji roślinnej zabezpieczana jest przez nawadnianie – zwłaszcza w suchej strefie podzwrotnikowej. Nawadnianie zalewowe jest znane od tysięcy lat, a znajomość i znaczenie tego faktu przybliża historia Egiptu. Ludzkość do nawodnień wykorzystuje wody powierzchniowe, zwłaszcza rzek, a w mniejszym stopniu jezior naturalnych. Piętrzenie wody rzek w jeziorach zaporowych na potrzeby rolnictwa i produkcji energii elektrycznej, zwłaszcza w strefie aridowej, prowadzi do wystąpienia lokalnych konfliktów o wodę. Spektakularnym konfliktem o rozdział wód rzeki Eufrat pomiędzy Turcją a Syrią, jest dramatyczna sytuacja ludności w tym ostatnim kraju, wywołana kilkuletnią suszą, której nie przewyżczono nawadnianiem, w takich warunkach klimatycznych wręcz nieodzownym. Szybko rozwijająca się gospodarczo i demograficznie Turcja większość wód rzeki Eufrat, w górnym jej biegu, skierowała na pola, głównie bawełny, odmian GMO. Do nawodnień w warunkach klimatu suchego wykorzystywana jest również odsolona (nie całkowicie) woda morska. Jednak w tak prowadzonym nawadnianiu, po pewnym czasie (długim) dochodzi do zasolenia i alkalizacji powierzchni gleby, co całkowicie ją degraduje, a w konsekwencji prowadzi do wyłączenia jej z rolniczego użytkowania, a na tych miejscach tworzą się gleby zasolone tzw. sołonce (solonetz) i sołonzaki. (solonchaks). Z drugiej strony intensywne i niekontrolowane nawadnianie roślin uprawnych w strefie klimatu suchego, z intensywnym parowaniem powierzchniowym, prowadzi do drastycznego obniżenia poziomu lustra wód głębinowych, których koszty wydobycia nie pokrywają przychody z produkcji rolniczej. Taka sytuacja miała miejsce w stanie Arkansas (USA) przy uprawie bawełny. Nawadnianie w nieodległej przeszłości bawełny na terenie Uzbekistanu, doprowadziło do wystąpienia katastrofy ekologicznej w basenie jeziora Aralskiego. Te historyczne doświadczenia, każą ludzkości podchodzić z dużą starannością do nawadniania, zwłaszcza z użyciem do tego celu wód zawierających nadmiar kationów wapnia, magnezu, sodu i potasu oraz nadmiar anionów saletrzanych, siarczanych, chlorkowych i węglowych. Jednak najbardziej szkodliwa dla środowiska glebowego i roślin uprawnych jest nadmierna koncentracja związków sodu w wodzie używanej do nawodnień.

Rośliny bobowate cenione są od dawna przez ludzkość, reprezentowane przez gatunki uprawne w strefie klimatu zwrotnikowego i cieplejszej strefie klimatu umiarkowanego, dostarczają żywności zasobnej w białko. Użytkowanie jako pokarmu nasion tych roślin, umożliwiają egzystencję biologiczną ludzi bez konieczności znaczącej konsumpcji żywności pochodzenia zwierzęcego, a takim przykładem jest wegetarianizm, szeroko praktykowany na obszarze subkontynentu indyjskiego, również rozpowszechniony w innych krajach, położonych na obszarze klimatu ciepłego i gorącego. Autor pracy w obszernym wstępie w kompetentny sposób przedstawił zasolenie i jego uwarunkowania środowiskowe. Zjawiska te są widoczne w glebach nazywanych solonchaks i solonetz. Szczegółowo omówił mechanizmy obronne na stres zasolenia, obserwowane u roślin. Zakończeniem rozdziału jest charakterystyka biologiczna i gospodarcza roślin bobowatych. Omówił wiązanie azotu przez rośliny bobowate, z uwzględnieniem środowisk zasolonych. Autor rozprawy dostrzegł dysonans jaki rysuje się pomiędzy wieloma cennymi właściwościami roślin bobowatych, a ich skromnym udziałem w strukturze zasiewów na obszarze UE. Wyjątkiem jest soja który to gatunek bobowaty, zajmuje największy areal w świecie, który nieustannie zwiększa się. Włączenie krajowej odmiany soi do zestawu obiektów badań, należy uznać za właściwe posunięcie. Poczynione studia literaturowe umożliwiły Autorowi dobre osadzenie hipotez badawczych oraz celu badań, a następnie ich weryfikację w szeroko zakrojonych badaniach, obejmujących osiem różnorodnych doświadczeń.

Celem podjętych badań było określenie i porównanie reakcji gatunków i odmian na stres zasolenia. Kryteriami oceny było oznaczenie parametrów fizjologicznych, zawartości wybranych związków biochemicznych oraz oszacowanie wskaźników w połączeniu z ich zmianami. Zasięg porównań reakcji badanych roślin bobowatych poszerzono o obliczenie 17-stu wskaźników, opisanych w literaturze naukowej i stosowanych we współcześnie prowadzonych badaniach. W pracy szczególny nacisk położono na (1) określenie i porównanie kiełkowania nasion odmian i gatunków, jako reakcję na zasoloną glebę. (2) oszacowanie wzrostu młodocianych roślin, z uwzględnieniem zmian poszczególnych parametrów fizjologicznych i biochemicznych, także u roślin w bardziej zaawansowanej fazie rozwoju. (3) określenie stopnia zasolenia na efektywność wytwarzania układu symbiotycznego, tak ważnego dla roślin bobowatych. (4) oszacowanie skutków dla porównywanych gatunków naprzemiennego podlewania roślin wodą zasoloną i niezasoloną. (5) podjęto poszukiwania biostymulatorów, przydatnych w łagodzeniu stresu solnego roślin, co może łagodzić negatywny skutek nawadniania wodą zasoloną roślin bobowatych, co jest jakby próbą wypracowania osłony agrotechnologicznej dla praktyki rolniczej.

Ocena struktury dysertacji doktorskiej, która została wykonana w oparciu o 8 jednoczynnikowych doświadczeń, w których czynnikiem badanym były stężenia NaCl w roztworze wodnym, użytym do podlewania. Doświadczenia przeprowadzono na szalkach Petriego, w doniczkach, kontenerach o pojemności 8 m³. Podjęte eksperymenty przeprowadzono w fitotronie lub tunelu foliowym w naturalnych warunkach termicznych. Autor ocenianej pracy nie podał kalendarzowych okresów badań, obejmujących miesiące i lata (jeden lub kilka?).

Rozprawa liczy 178 stron, z czego 175 stron tekstu i strona tytułowa, a ponadto 2 nienumerowane strony. Maszynopis dysertacji został podzielony na 10 rozdziałów, z których niektóre mają liczne podrozdziały. W zakończeniu pracy zamieszczono spis literatury i streszczenia w języku polskim i angielskim. Układ pracy jest poprawny pod względem formalno-metodycznym i zarazem typowy dla prac eksperymentalnych. Podział treści między poszczególne rozdziały przedstawia się następująco: 1. Wykaz terminów i skrótów – 2 strony; 2. Wprowadzenie – 2 strony; 3. Wstęp – 28 stron; 4. Cel pracy – 1 strona; 5. Materiał i metody – 28 stron; 6. Wyniki – 61 stron; 7. Dyskusja – 18 stron; 8. Podsumowanie i wnioski – 3 strony; 10. Literatura – 15 stron. Zwięzłe przedstawienie struktury pracy z wyszczególnieniem podziału treści dobrze wprowadza czytelnika w jej zawartość informacyjną i zarazem wskazuje na szeroki zakres podjętych i przeprowadzonych badań, co umożliwiło Autorowi dysertacji osiągnięcie wartościowych konstatacji pod względem poznawczym i praktycznym, znacząco poszerzających zakres wiedzy o reakcji roślin bobowatych na stres zasolenia, wynikły z nawadniania.

.Badania zostały zaplanowane w logiczny i konsekwentny sposób, świadczący o rozeznaniu źródeł literaturowych i dogłębnej znajomości podjętego tematu. Pozyskane dane liczbowe, odnoszące się do cech fizjologicznych i mierników biochemicznych, opracowano z wykorzystaniem właściwych obecnie metod statystycznych. Doktorant wykazał się umiejętnością przejrzystego i zarazem powtarzalnego zestawienia różnorodnych wyników badań. Takie konsekwentne podejście umożliwiło analizę porównawczą reakcji roślin bobowatych na zasolenie, aplikowane systematycznie w czasie wzrostu i rozwoju. Ze względu na obszerny charakter monotematycznego opracowania jakim jest oceniana dysertacja doktorska, Autor nie ustrzegł się drobnych niedociągnięć – najczęściej o charakterze stylistycznym, które zostaną wymienione w dalszej – szczegółowej części recenzji dysertacji doktorskiej.

Ogólna ocena i uwagi dotyczące poszczególnych rozdziałów:

W początkowej części dysertacji, strony 4 i 5 Autor całościowego opracowania przedstawił w alfabetycznym porządku wykaz stosowanych terminów i skrótów, co dla czytelnika jest dużym ułatwieniem w lepszym rozumieniu treści i zarazem znacząco zmniejsza objętość strumienia tekstu. Takie postępowanie jest dobrą praktyką w pracach naukowych, o proveniencji biologiczno-chemicznej, mające określone i zarazem duże znaczenie w tekstach w których używane są często długie i skomplikowane nazwy związków chemicznych, różnorodnych wskaźników i mierników, a także nazwy poszczególnych metod badawczych. Autor dysertacji podał 41 takich terminów i skrótów.

Wprowadzenie: to krótki, sześćoakapitowy rozdział, w którym Autor w ogólny sposób przedstawia źródła zasolenia, adaptację roślinności do stref zasolonych, zwłaszcza w odniesieniu do gatunków roślin uprawnych, które w procesie udomowienia przez człowieka mogły takie uzdolnienia utracić. Autor podkreśla, że przy uprawie roślin uprawnych (rolniczych, ogrodniczych i sadowniczych), z intensywnym nawożeniem i nawadnianiem, może dojść do wtórnego zasolenia gleb, w następstwie którego, zmianie mogą ulec wartości cech morfologicznych roślin. W części końcowej przedstawione są rozważania odnoszące się do zasolenia i spodziewanej reakcji roślin strączkowych (bobowatych), zwłaszcza w odniesieniu do reasymilacji CO₂, pochodzącego z oddychania, a taki proces w opinii Autora ma pewną dozę podobieństwa do mechanizmu fotosyntezy typu C-4. Zawarte przemyślenia, przelane na papier wskazują na zrozumienie różnorodnych i zarazem oczekiwanych reakcji roślin bobowatych, co pokazuje dojrzałość naukową Autora dysertacji.

Wstęp: po uważnej lekturze należy uznać ten rozdział za rozbudowany informacyjnie, który został podzielony na dwa podrozdziały, z których każdy liczy po kilka podpodrozdziałów. Autor w obszerny i kompetentny sposób omawia zasolenie gleb, będące dla roślin stresowym czynnikiem abiotycznym. Autor zaznacza że globalne ocieplenie klimatu na Ziemi, jest stymulatorem „stepowienia” obszarów rolniczych, które wymusza konieczność nawadniania upraw roślin rolniczych, zwłaszcza bobowatych, których wegetacja, jako roślin jarych ma miejsce w okresie lata, co przy wystąpieniu okresów suszy, ogranicza poziom ich plonowania, a uzyskiwane plony są mało stabilne w latach. Autor dysertacji zauważa, że dalsze rozszerzanie nawadnianej powierzchni jest strategiczną koniecznością, dla ilościowego zwiększania produkcji żywności. Dlatego przybliżenie tej problematyki, pozornie odległej dla współcześnie prowadzonej produkcji żywności, jest ważkim osiągnięciem Autora, zwłaszcza że jak podaje 230 mln ha gruntów rolnych na świecie, to tereny nawadnianie, z czego 20% uległo już degradacji, w wyniku nawadniania nie w pełni odsoloną

wodą morską. Również nadużywanie nawozów mineralnych może być w przyszłości czynnikiem sprawczym, determinującym zasolenie i alkalizację gleb rolniczych. Rośliny uprawne reagują negatywnie na nawadnianie wodą zawierającą NaCl w ilości $40 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. W tym miejscu został wymieniony ryż jako roślina wrażliwa na zasolenie, co budzi zdziwienie, gdyż w trakcie wegetacji, woda zalewowa stagnuje na polach, często pochodząc z obfitych opadów atmosferycznych, które zawierają śladowe ilości soli.

W oparciu o najnowszą literaturę przedstawiono zróżnicowane odpowiedzi roślin w trakcie wegetacji na stres zasolenia. Dla lepszego zrozumienia problematyki fizjologicznej reakcji, omówione zostały cztery źródła procesów występujących w reakcjach roślin na stres solny, ulegający zmianom w czasie. W tym rozdziale omówiono i przedstawiono rysunkowy model odpowiedzi roślin na stres solny, co dobrze obrazuje wielorakość różnorodnych reakcji, zachodzących na poziomie biologicznym i chemicznym. W zakończeniu rozdziału dokonano charakterystyki biologicznej roślin bobowatych. Pewne zdziwienie budzi krótka charakterystyka łubinu białego, gatunku nieuwzględnionego w zestawie gatunków włączonych do eksperymentów. Dopelnieniem wiedzy o roślinach bobowatych są informacje odnoszące się do arealu uprawy, zmieniającego się w czasie oraz skali importu. W zakończeniu rozdziału omówiono wiązanie azotu, uwzględniając gleby środowisk zasolonych. Należy wyróżnić ważne informacje, które odnoszą się do ewolucji procesu symbiozy, jakie zawarł Autor w tym rozdziale. W opinii Recenzenta różnorodne informacje podane w tym rozdziale, dobrze osadzają omawianą problematykę w piśmiennictwie naukowym i zarazem wprowadzają w harmonogram i cele badań.

Cel pracy chociaż wielowątkowy, został sformułowany logicznie i przejrzysto. Na poziomie ogólnym i szczegółowym dobrze koresponduje z tematem, założeniami metodycznymi, planowaniem eksperymentów oraz wysnutymi wnioskami. Zaproponowany i przedstawiony przez Doktoranta cel pracy należy uznać za ważki i zarazem ambitny, jako konieczny dla pogłębionego poznania reakcji roślin bobowatych na stres zasolenia. Cele szczegółowe w liczbie pięciu, wymusiły konieczność podjęcia aż ośmiu eksperymentów badawczych, a w ślad za tym wykonano dużą ilość pomiarów, obserwacji i różnorodnych analiz. Dodatkowo w dalszej części pracy, przy opisie z każdego z przeprowadzonych doświadczeń w zakończeniu obszernie opisano cele badawcze.

Materiał i metody – Autor w początkowej części metodycznej pracy przedstawia schemat blokowy doświadczeń. W tabeli 3 Autor dysertacji omówił założenia doświadczeń, z uwzględnieniem ich sekwencji. Do ważnych informacji tam podanych, zaliczam ogólny opis oczekiwanych wyników dla poszczególnych doświadczeń, jako weryfikację postawionych

hipotez badawczych.. Materiał roślinny składał się z wybranych odmian czterech gatunków roślin bobowatych: grochu siewnego, łubinu żółtego łubinu wąskolistnego i soi, reprezentowane przez krajowe odmiany, pochodzące z polskich spółek Hodowli Roślin. Autor badań dotarł do informacji pisanych lub przeprowadził kwerendę w firmach dla ich uzyskania. Badania przeprowadzono w warunkach stresu zasolenia, obejmującego od 4-ech do 6ciu poziomów zawartości NaCl w wodnym roztworze. W roślinach wykonano pomiary wzrostu (metodą wagową), fotosyntezy netto, transpiracji, kinetyki fluorescencji oraz przewodnictwa szparkowego. Obliczano wskaźnik odporności roślin na stres solny. Z uznaniem należy przyjąć użycie 12-stu parametrów wskaźnikowych, przy czym w doświadczeniach realizowanych najwcześniej oznaczono tylko dwa. Ponadto oznaczono stężenie wybranych metabolitów, dysmutazy ponadtlenkowej, cukrów rozpuszczalnych, zawartość wolnej proliny, oznaczono także zawartość podstawowych makroelementów. Zmierzono aktywność katalazy i peroksydazy, a także oznaczono izotop węgla ^{13}C Dobór metod analizy statystycznej ogranicza się do wykorzystania jednoczynnikowej analizy wariancji, która została dostosowana do układu doświadczenia. Istotność różnic między średnimi została określona na podstawie testów Duncana lub Studenta. W przedstawionej pracy nie analizowano zróżnicowania użytych w niektórych doświadczeniach gatunków roślin bobowatych, wychodząc zapewne z założenia, że wynikłe różnice determinowane są zróżnicowaniem botanicznym porównywanych taksonów. Jednak pominięcie analizy statystycznej odmian np. grochu jest niepotrzebnym uproszczeniem. Autor pozbawił się obiektywnej wiedzy, odnośnie zaistniałych różnic międzyodmianowych. Których zarejestrowane wartości są istotne czy nie?, jakie cechy im podlegają? Wszystkie użyte metody badawcze zostały szczegółowo i wyczerpująco opisane. Większość badań doktorant wykonał w macierzystym IFR, a dążąc do poszerzenia zasobu informacji, niektóre pomiary zostały przeprowadzone na zewnątrz, co dotyczy analizy dyskryminacji izotopu węgla ^{13}C , wykonanej w Instytucie Nauk Geologicznych PAN w Warszawie.

Wyniki – obejmujące rezultaty badań, przedstawiono w sposób uporządkowany i logiczny w 49 tabelach, na 4 wykresach i 4 fotografiach. W niektórych tabelach zgrupowano dużą ilość wyników, a przykładami są tab. 19 i 20. Uzyskane i opracowane statystycznie wyniki, zestawiono i skomentowano w 8 podrozdziałach. Przedstawione wyniki odnoszą się do doświadczeń 1-8 i obejmują cechy morfologiczne, zawartość pierwiastków, składników biochemicznych. W eksperymencie 1 wykorzystano po 3 odmiany grochu siewnego: '178 SZD', 'Batuta', 'Wenus' i łubinu żółtego: 'Baryt', 'Taper', 'Mister', natomiast łubin wąskolistny: 'Sonet' i soja 'Augusta', reprezentowane były przez pojedyncze odmiany.

Zasolenie jako czynnik badawczy w różnym stopniu zmieniał zdolność kiełkowania nasion porównywanych gatunków roślin bobowatych. Nasiona łubinów i soi zmniejszały istotnie zdolność kiełkowania w miarę zwiększania stężenia NaCl w roztworze wodnym. Odmianą reakcję na zasolenie wykazał groch siewny, którego SSI był mało wrażliwy, a odmiana 'Batuta' jakby mu nie podlegała, o czym świadczą wyniki zamieszczone w tabeli 4. Autor pracy dociekał czy świeża masa różnych części składowych młodej rośliny łubinów i grochu reagują podobnie na zasolenie, lecz nie poparł tego analizą statystyczną, którą wykonał tylko w odniesieniu do młodych siewek. Pewnym mankamentem metodycznym w tym doświadczeniu jest odmienne zasolenie wody, inne dla łubinów i grochu w porównaniu ze soją, dla której aplikowano mniej dawek, ale o wyższym stężeniu NaCl w roztworze wodnym. Uwaga ta podniesiona w tym miejscu ma na celu zwrócić uwagę Autora badań, czy uszeregowanie gatunków roślin bobowatych jest obiektywną czynnością naukową zważywszy, że (1) do podlewania użyto różnych stężeń NaCl w roztworze wodnym, a po (2) nie przeprowadzono analizy statystycznej zróżnicowania pomiędzy gatunkami w odniesieniu do wskaźnika kiełkowania i świeżej masy siewek. Ta wątpliwość ma szerszy kontekst, ponieważ Autor dysertacji, wielokrotnie tak postępuje w dalszej części pracy, przy omawianiu innych doświadczeń.

W doświadczeniu drugim doktorant analizował nadziemną świeżą i suchą masę oraz uwodnienie tkanek u czterech gatunków roślin bobowatych, które były reprezentowane przez tylko jedną odmianę. W tym doświadczeniu stężenia NaCl w roztworze wodnym były inne niż w doświadczeniu 1. Użyta jako wzorzec w tym doświadczeniu kryształka lśniąca była traktowana wyższymi stężeniami NaCl. W tym miejscu potrzebne jest wyjaśnienie o powód takiego podejścia badawczego. Jeszcze bardziej intrygujące jest włączenie do badań odmiany Wenus grochu siewnego, która okazała się najwrażliwsza na stres zasolenia, co zostało udowodnione w doświadczeniu 1. Autor badań dowiódł, że zawartość wolnej proliny w liściach wzrasta, a jej poziom od dawki $100 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaCl w roztworze wodnym używanym do podlewania, silnie i zarazem istotnie zwiększał się. W podobnym stopniu, aczkolwiek nie analogicznym zmieniał się stan i funkcjonalność aparatu fotosyntetycznego porównywanych w tym doświadczeniu roślin bobowatych. Ważnym ustaleniem Autora badań, pozostaje konstatacja, że intensywność fotosyntezy netto u soi i grochu 'Wenus' rośnie w miarę wzrostu zasolenia NaCl roztworu wodnego, analizowanego w zakresie $0 - 150 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Jednak przebieg zróżnicowań przy poszczególnych stężeniach zasoleniu, u porównywanych gatunków nie jest identyczny. Intrygujące jest pytanie dlaczego w uszeregowaniu nie dostrzeżono tych wątpliwości?. W warunkach stresu zasolenia

intensywność transpiracji z liści w powiązaniu przewodnictwem szparkowym u soi i grochu odm. 'Wenus' spada, ale pytanie o czynnik sprawczy takiej reakcji jest zasadne, czy jest tutaj uwikłana odmienna odporność na utratę wody u porównywanych dwóch gatunków roślin bobowatych. W tym doświadczeniu został wykazany brak wpływu zasolenia na zawartość wybranych makro - i mikroelementów w podłożu w miarę wzrostu zawartości NaCl w wodzie używanej do podlewania, a ze względów metodycznych wyłączono sól, dlatego te osiągnięcia należy uznać, za istotne i ważne *novum*. Podobnie należy ocenić dociekania Autora w odniesieniu do perlitu i używanego w badaniach substratu glebowego. Udowodniony kierunek tych zmian, poczyniony w odniesieniu do pędów i korzeni, świadczy o przewadze substratu glebowego, ponieważ części nad – i podziemne czterech gatunków roślin bobowatych miały wyższą zawartość wybranych pierwiastków. W tym miejscu pojawia się pytanie, czy ta sytuacja miała wpływ na jednostkową masę rośliny?

W kolejnym doświadczeniu (nr 3) autor analizował świeżą i suchą masę roślin u trzech gatunków roślin bobowatych (wyłączony łubin żółty), w uprawie bezglebowej – tab. 21. Podjęto dłuższą w czasie uprawę roślin, która wykazała że najodporniejszy był groch siewny odm. 'Wenus', natomiast soja odm. 'Augusta' okazała się wrażliwą rośliną, z uwagi na zamieranie roślin przy zawartości NaCl w ilości $70 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. W tym miejscu należy wrócić do tab. 8, w której zamieszczono dane świadczące o tym, że stężenie NaCl w zasolonej wodzie nie powodowało zamierania roślin. Taki układ wyników prowokuje do rozważań co do znaczenia wieku rośliny, jako odpowiedzi na skutki stresu zasolenia. Czy siewka to dobry model badawczy?. W odniesieniu do grochu uzyskano wręcz stymulację rozwoju, zwłaszcza przy stężeniu $40 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaCl w roztworze wodnym, użytym do podlewania. W tym doświadczeniu Autor podjął próbę analizy wielocechowej dla 10 cech fluorescencji, stwierdzając że łubin wąskolistny okazał się gatunkiem najodporniejszym. Dziwi w tym rankingu słaba pozycja łubinu żółtego. Dopełnieniem analityki w tym doświadczeniu była analiza zmian aktywności enzymów antyoksydacyjnych, czyli dysmutazy, katalazy i peroksydazy niespecyficzej, która wykazała, że groch spośród roślin bobowatych jest gatunkiem najodporniejszym na stres zasolenia przy podlewaniu wodą o zawartości $70 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$. W opinii autora izotop węgla ^{13}C to dobry wskaźnik określania roślin na zasolenie. Rozważania, zamieszczone na stronach 104—106, pisane są ze zrozumieniem problematyki fotosyntezy, świadczą o dużej wiedzy Autora na temat jej uwarunkowań w różnych częściach rośliny, co uczynił wcześniej w odniesieniu do grochu odm. 'Batuta'. Następcze skutki podlewania naprzemiennego wodą zasoloną vs. słodką dwóch odmian grochu to przedmiot badań w doświadczenia nr 4. Jednak niestałość Autora

badania, co do założeń metodycznych, sprawiła włączenie nowej odm. 'Bohun' grochu, kreacji hodowlanej nieobecnej w doświadczeniu nr 1. Odmiana ta w warunkach uprawy w perlicie okazała się bardziej wrażliwa na stres zasolenia w porównaniu z odm. 'Wenus', natomiast przebadana wcześniej odmiana grochu 'Batuta' mogłaby dostarczyć lepszej informacji odnośnie reakcji tego taksona na zasolenie.

Ważkie problemy dla roślin bobowatych, związane z symbiozą z bakteriami *Rhizobium* podjęto w doświadczeniu nr 5. Na podkreślenie zasługuje fakt włączenia dwóch nowych odmian - grochu siewnego 'Bohun' i łubinu żółtego 'Dukat'. Te kreacje hodowlane podlewano wodą o małym zasoleniu, maksymalne stężenie NaCl to $40 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$, co jakby faworyzowało wzrost roślin, ponieważ jak to wcześniej wykazano, groch to gatunek spośród roślin bobowatych, stosunkowo odporny na zasolenie. Ważnym ustaleniem jest wykazanie systematycznego spadku „obrodawkowania” systemów korzeniowych, manifestującego się zmniejszeniem liczby brodawek u 1 rośliny, przy rosnącym zasoleniu wody, jakiej używano do podlewań. W tym doświadczeniu doktorant doprowadził rośliny do znacznej wysokości, a zmniejszone zasolenie nie powodowało ich zamierania, a takie podejście to swoiste ubezpieczenie problematyki badawczej?, dość odległe od założeń wcześniejszych doświadczeń. Liczba brodawek na korzeniu 1 rośliny to pewne uproszczenie, ponieważ łubin żółty ma znacznie większe i bardziej masywne brodawki.

W doświadczeniu nr 6 zbadano u łubinu żółtego odm. 'Mister' długość okresu wegetacji, która została wydłużona, ponieważ Autor badań podaje że I-szy termin pomiaru to 5-ty tydzień wegetacji, a ostatni termin (str 114) nie został pod względem czasowym określony, (3-ci?). Na stronie 116 zapisano że 6 tygodni upłynęło od siewu w pierwszym terminie pomiarowym, zatem jak było faktycznie?. W warunkach uprawy na perlicie zasolenie nie ograniczało znacząco masy roślin. Wyjątkiem było ustawiczne zasolenie, trwające od siewu, które obniżyło masę pojedynczej rośliny łubinu żółtego w 3-cim terminie pomiarowym. Występujący z opóźnieniem, bo po 4 tygodniach wzrostu roślin stres zasolenia był mniej szkodliwy niż stałe oddziaływanie tego procesu. Weryfikacją skutków zasolenia w tym doświadczeniu była analiza zawartości pięciu cukrów w liściach roślin łubinu żółtego (w terminie zerowym), spośród których tylko trehaloza i sacharoza zwiększyły koncentrację. W odniesieniu do maltozy zarysowała się przeciwna tendencja. W kolejnym terminie pomiarowym koncentracja cukrów uległa zmniejszeniu, za wyjątkiem trehalozy. Jako reakcja na zasolenie zawartość cukrów w terminie 3 była odmienna, tylko długotrwałe zasolenie podnosiło zawartość trehalozy. Ten cukier (trehaloza) oraz sacharoza, w opinii Autora utrzymują żywotność roślin łubinu żółtego w warunkach stresu zasolenia. Można postawić

hipotezę że oprysk roślin tymi cukrami w warunkach strefy arrydowej, z zasoloną glebą może poprawić kondycję uprawianych roślin bobowatych.

Próby łagodzenia stresu zasolenia u wybranych gatunków roślin bobowatych, legły u podstaw założeń metodycznych doświadczenia nr 7. Pomiary oparto o reakcję trzech gatunków roślin bobowatych, analogicznie jak w doświadczeniu nr 3. Wyniki wykazały, że porównywane gatunki zareagowały różnie. Preparat Ashai® łagodził stres solny u grochu, natomiast łubin żółty i soja zareagowały odmiennie, wykazując spadek masy roślin. Taki układ wyników pokazuje, że szeroko zakrojone badania umożliwiają poprawę warunków wegetacji..U wszystkich gatunków bobowatych, porównywanych w tym doświadczeniu oprysk zearalenonem spowodował spadek masy roślin. W miejscu należy postawić pytanie(a) o przesłanki naukowe, odnośnie wyboru tego związku jako osłony przed stresem zasolenia. Kontynuacją tego pomysłu są założenia metodyczne doświadczenia nr 8, w którym porównane są tylko dwa gatunki roślin bobowatych – groch siewny i soja. Reakcję oparto o wielkość świeżej i suchej masy nadziemnych części pojedynczej rośliny grochu odm. Wenus i soi odm. Augusta oraz części podziemnych. Uzyskane wyniki potwierdziły rezultaty poprzedniego doświadczenia. Ponadto przeprowadzono oznaczenia zawartości najważniejszych cukrów w liściach, jako gatunków reakcję na stres solny. Niestety autor nie podaje stężenia NaCl w roztworze glebowym, jaki był użyty do wywołania stresu zasolenia. Na podkreślenie zasługuje analiza zawartości cukrów i wolnej proliny w liściach, które wykazały, że każdy z zastosowanych stymulatorów wykazywał pozytywne działanie, łagodzące negatywny wpływ zasolenia.

Rozdział Dyskusja jest w ocenianej pracy bardzo obszerny i napisany wnikliwie i ze znawstwem, ale nawiązuje głównie do roślin. Treści tam zawarte zostały zgrupowane w pięciu podrozdziałach. Problematyka gleboznawcza związana z zasoleniem została pominięta całkowicie. W początkach rozdziału Autor poruszył zagadnienia przyrostu masy roślin jako ich reakcji na zasolenie, wywołujące efekt osmotyczny w strefie korzeniowej. Nadmiar soli w roztworze wodnym, spowalnia tempo gromadzenia masy w częściach nad – i podziemnych, zwłaszcza po przekroczeniu stężenia $40 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$, czym potwierdził wartość własnych wyników. Autor omawia własne wyniki w nawiązaniu do rezultatów innych badaczy, podkreślając że obniżenie masy pojedynczej rośliny jest objawem charakterystycznym dla stresu solnego. Dla mniejszych stężeń wykazał istnienie procesu stymulacji wzrostowej, a to zjawisko było znane, bo opisane wcześniej w literaturze. Uwzględniając ważność symbiozy dla roślin bobowatych, podkreślono że wrażliwość bakterii brodawkowych na stres zasolenia jest niewielka, co wskazuje na możliwość nawadniania roślin

bobowatych nie w pełni odsoloną wodą. Groch siewny to gatunek spośród roślin bobowatych najodporniejszy na stres zasolenia, a takie ustalenie na gruncie naukowym jest zgodne z innymi doniesieniami literatury.

Dużo uwagi poświęcił Autor na określenie stresu zasolenia na aktywność antyoksydacyjną, odnosząc tę reakcję do różnych gatunków, zarówno spośród roślin bobowatych, jak i zbożowych. Wydaje się że wcześniejsze badania soi dokonane przez Comba i Benaviades [1997] oraz Comba et al. [1998] były impulsem do przyjęcia wysokich koncentracji NaCl w roztworze wodnym jaki zdecydował się użyć Autor we własnym doświadczeniu.

Relacje pomiędzy zasoleniem a fotosyntezą, jako procesem fizjologicznym były badane w pracy i intelektualnie konfrontowane w dyskusji. Redukcja biomasy roślin jako reakcja na stres solny, to skutek spowolnienia fotosyntezy netto, wywołany między innymi przemykaniem aparatów szparkowych u roślin bobowatych, redukcją zawartości chlorofilu, karotenoidów i ksantofili w liściach. W opinii Autora zasolenie ma silny i wieloraki wpływ na pobieranie związków mineralnych przez korzenie. W dyskusji Autor tłumaczy skutki nadmiaru sodu na procesy życiowe roślin uprawnych, a nie tylko roślin bobowatych, będących przedmiotem badań. Przedstawia inhibicje w pobieraniu jonów amonowych z gleby, jako wynik nadmiernego zasolenia. Zagadnienia te są w tym rozdziale poruszone bardzo szeroko, bo wzmiankuje się o utrudnieniu w pobieraniu fosforu przez rośliny, jako skutku zasolenia.

Próby łagodzenia stresu solnego poprzez stosowanie stymulatorów wzrostu, to próba wypracowania agrobiologicznej osłony dla uprawy roślin w warunkach stresu solnego. To nowatorskie podejście może budzić wyjątkowe zainteresowanie, umożliwiając Autorowi badań, możliwość zaistnienia w literaturze światowej, z uwagi na wysoki areał gruntów nawadnianych, często nie w pełni odsoloną wodą morską.

Wnioski to rozdział w którym wysnute je w liczbie 9, należycie korespondują z tematem pracy i przyjętymi celami badań. Przeprowadzone wnioskowanie oparto o olbrzymi materiał eksperymentalny, który dostarczył wielu różnorodnych danych, a przeprowadzona analiza statystyczna, w części umożliwiła wysnucie zasadnych formalnie i merytorycznie wniosków. Wszystkie zapisane wnioski odznaczają się istotnym ładunkiem informacyjnym. Generalna konstatacja zasadza się na stwierdzeniu, że zasolenie ogranicza wzrost roślin bobowatych oraz spowalnia symbiozę z bakteriami brodawkowymi. Wykazano reakcje gatunkowe roślin bobowatych na stres zasolenia, z podkreśleniem i uzasadnieniem soi, jako taksona, który posiada „barierę korzeniową”, ograniczającą nadmierną bioakumulację jonów sodu w

częściach nadziemnych. Małe lub umiarkowane zasolenie okazało się czynnikiem stymulującym wzrost roślin, a w ślad za tym również zwiększała się biomasa pojedynczej rośliny. Obecność niektórych cukrów to zwiększenie potencjału obronnego roślin na stres zasolenia. Bardzo cennymi z praktycznego i naukowego punktu widzenia wydają się przemyślenia zawarte we wniosku 9, który w modelowy sposób przedstawia reakcję roślin bobowatych na stres zasolenia w charakterystycznych fazach wzrostu. Zdziwienie budzi pominięcie we wnioskach wyników odnoszących się do możliwości łagodzenia stresu solnego poprzez stosowanie stymulatorów wzrostu, a zwłaszcza po aplikacji preparatu Ashai®.

Literatura – bardzo obszerna i poprawnie cytowana, a liczba wykorzystanych prac wynosi 175 pozycji naukowych, w większości anglojęzycznych, ogłoszonych w czasopismach ogólnosiwiatowych z listy A. Można stwierdzić że tak szeroki zakres piśmiennictwa świadczy o dociekliwości naukowej Doktoranta. Znajomość naukowej zawartości cytowanej literatury umożliwiła udatną konfrontację wyników własnych z zasobem informacji dostępnym w świecie

Oceniana dysertacja doktorska napisana została dobrym stylem i językiem, stąd można się doszukać niewielkich usterek edycyjnych. Przyjęte skróty pozwoliły skrócić strumień tekstu pracy. Dominujące w pracy tabele sporządzono w większości w sposób poprawny. Jak wcześniej stwierdzono zastosowanie jednoczynnikowej analizy wariancji, było zabiegiem pod badania efektów zasolenia, pomijając lepsze zrozumienie roli roślin, na poziomie gatunkowym i odmianowym. Uznanie budzi czynna doskonała znajomość przez Doktoranta metod analitycznych. Praktyczna znajomość wielu metod chemicznych, fizykochemicznych, fizycznych, statystycznych umożliwiła Mu wykonanie wielu pomiarów cech morfologicznych oraz zawartość różnorodnych substancji organicznych i mineralnych. Głęboka wiedza Doktoranta pozwoliła na obliczenie wielu wskaźników fizjologicznych i biochemicznych i właściwie zrozumienie ich wzajemne relacje.

Moje krytyczne uwagi, napisane z pozycji Recenzenta (oponenta) odnoszą się do różnorodnych problemów, jakie spotkałem w pracy. Część z nich została podniesione wcześniej, przy opiniowaniu dysertacji. W spisie treści dysertacji, rozdział Literatura opatrzone numerem 10, podczas gdy powinno się nadać cyfrę 9. W tabeli 15, umieszczonej na stronie 83 odmiennie potraktowano cyfry odnoszące się do dwóch gatunków. Generalnie cyfra najniższa powinna być opatrzona literą a, natomiast wzrost wartości liczbowej skutkować powinien dalszymi literami alfabetu. Na stronie 114 użyto potocznej terminologii, a ta uwaga odnosi się do zdania, zapisanego w 15 linii, licząc od dołu strony. W zakończeniu chciałbym

zgłosić Doktorantowi zapytanie wiążące się ze stresem zasolenia w warunkach klimatu suchego i ciepłego. **Który z systemów zaopatrzenia roślin w wodę polewowy (deszczowniany), czy też kropelkowy (oszczędny) jest lepszy w warunkach zasolonych gleb?** Pytanie to związane jest ze znanym od dawna faktem, odnośnie gorszego znoszenia suszy przez rośliny uprawne w warunkach gleb słonych.

Dostrzeżone w dysertacji usterki i potknięcia, nie umniejszają jej dużej wartości naukowej. Autor zebrał obfity materiał wynikowy, a następnie z dużą starannością zdołał go opracować i opisać. Stwierdzone w wyniku badań zależności i rysujące trendy ich zmian zostały szeroko skonfrontowane z doniesieniami innych autorów. Praca zawiera istotne i zarazem nowatorskie treści, co determinuje jej wysoką wartość poznawczą. Z drugiej strony dysertacja wnosi nowe elementy do teorii i praktyki nauk agronomicznych z zakresu fizjologii roślin. Stwierdzono nowatorstwo w odniesieniu do stymulatorów wzrostu jako próby ograniczenia lub nawet przezwyciężenia skutków stresu zasolenia dla wybranych gatunków roślin bobowatych.

Podsumowanie

Oceniana dysertacja doktorska została wykonana poprawnie we wszystkich jej etapach powstawania. Szczególnie pedantycznie wykonał Doktorant różnorodne pomiary i oznaczenia chemiczne związków organicznych. Obliczenie różnorodnych wskaźników i mierników to niewątpliwie udana próba pod względem poznawczym. Z tych powodów wartość merytoryczną różnorodnych wyników, tak proweniencji agrobiologicznej jak i biochemicznej oceniam bardzo wysoko. Autor posiadał doskonałe umiejętności, poparte doświadczeniem praktycznym, w zakresie stosowania nowoczesnych i złożonych metod badawczych. Podjął i przeprowadził na ogół właściwą interpretację uzyskanych wyników. Kompozycja stylistyczna pracy, odpowiednia sekwencja pracy doskonale rzutuje na przejrzystość. Praca napisana jest jednoznacznie, a w rozdziałach jej treść jest jednoznaczna, natomiast poziom edytorski oceniam wysoko, z uwagi na celne wiązanie faktów, tak proweniencji biologicznej jak i biochemicznej. Uzyskane zostały w trakcie badań różnorodne wyniki szczegółowe, jak i wyliczone wskaźniki, wnoszą oryginalne wartości poznawcze i użyteczne z zakresu badań fizjologicznych nad reakcją roślin bobowatych grubonasiennych na stres zasolenia. Dlatego ten zasób nowej wiedzy odnośnie stresu zasolenia, wywołanego nawadnianiem nie w pełni odsoloną wodą morską, stanowić będą cenne uzupełnienie dotychczas uzyskanych wyników, odnoszącej się do tej problematyki. W części mogą

stanowić inspirację podejmowanych w przyszłości, co może zaowocować zwiększoną liczbą cytowań, ważnych dla Autora dysertacji, jak i macierzystego Instytutu.

Oceniając całokształt rozprawy doktorskiej mgr inż. Macieja Maciejewskiego pt.: „Reakcja wybranych gatunków roślin bobowatych na zasolenie”, pragnę jednoznacznie stwierdzić, że przedłożona do oceny dysertacja spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Fizjologii Roślin im. F. Górskiego PAN w Krakowie o dopuszczenie jej Autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na oryginalność wyników i części wniosków, kompleksowość podejścia do problemu badawczego oraz szeroki zakres i wysoką jakość wykonanych badań przy użyciu, współczesnej i zarazem drogiej aparatury, w połączeniu z koniecznością wydatkowania dużej ilości czasu na ich wykonanie, wnioskuję o naukowe wyróżnienie niniejszej dysertacji doktorskiej i jej Autora.

Kraków, 08.09.2016 r.

prof. dr hab. Tadeusz Zając

