

RECENZJA

rozprawy doktorskiej
pt. „Reakcja wybranych gatunków roślin bobowatych na zasolenie”
Pana mgr Macieja Maciejewskiego
wykonana na zlecenie Rady Naukowej Instytutu Fizjologii Roślin
im. Fr. Górskiego PAN w Krakowie

Doktorant, Pan mgr M. Maciejewski podjął się badań nad bardzo ważnym w skali globalnej zagadnieniem. Wzrastająca liczba ludności, postępująca urbanizacja i industrializacja powodują, że coraz mniejsza powierzchnia ziemi uprawnej przypada dla żywienia jednego człowieka. Jednocześnie, wskutek niedostatku opadów duża część obszarów uprawnych jest sztucznie nawadniana, co prowadzi do zwiększonego zasolenia gleb. Doktorant podaje za FAO, że problem ten dotyczy około 6% obszaru wykorzystywanego do żywienia ludzi. Tak więc dla wzrastającej liczby ludności musimy produkować więcej żywności – przede wszystkim dzięki zwiększonej wydajności roślin (nowe odmiany i technologie uprawy) przy wzrastającym zasoleniu gleb, albo zagospodarowując nowe, często zasolone obszary odpowiednimi gatunkami i odmianami roślin. Przyjmuje się, że do połowy bieżącego stulecia możliwe będzie podwojenie produkcji zbóż – w 80% dzięki intensyfikacji produkcji, a tylko w 20% dzięki zagospodarowaniu nowych obszarów uprawy. Takim rejonem może być płaskowyż Cerrado w Ameryce Południowej o powierzchni ponad 2 mln km² na którym teoretycznie można wykorzystać dwa sezony wegetacyjne. Zasolenie gleb jest zatem ważnym problemem globalnym, na szczęście jeszcze nie polskim. Dobrze natomiast, że podejmowane są badania wyprzedzające, bo poszukiwanie odpowiednich gatunków i odmian, znoszących warunki stresowe jest procesem długotrwałym. Powyższe wskazuje na duże znaczenie podjętych przez Doktoranta badań, a celem ich było:

– sprawdzenie, czy wrażliwość na zasolenie wybranych gatunków roślin związana jest ze zmianami ich parametrów fizjologicznych oraz zmianami zawartości i aktywności biochemicznej wybranych związków i w konsekwencji, czy mogą one być wskaźnikami wrażliwości roślin na stres zasolenia,

oraz

– uszeregowanie wybranych gatunków pod względem wrażliwości na stres solny.

Zaprojektowane doświadczenia miały zweryfikować kilka hipotez badawczych, w tym o zróżnicowaniu wybranych gatunków pod względem kiełkowania i wzrostu oraz parametrów

fizjologicznych i biochemicznych roślin w warunkach zasolenia gleby, o wpływie zasolenia na efektywność symbiozy roślin z bakteriami korzeniowymi, o zmianach wywoływanych naprzemiennym podlewaniem pożywką zasoloną i niezasoloną oraz o możliwości wykorzystania biostymulatorów w łagodzeniu stresu solnego.

Przygotowanie do badań własnych Doktoranta można ocenić na podstawie przeglądu literatury. Został on opracowany w dwu częściach dotyczących podjętego problemu, tj. zasolenia, jako czynnika stresowego gleb oraz obiektów badawczych tj. gatunków strączkowych/bobowatych. W pierwszej części szczegółowo omówiono przyczyny zasolenia gleb, jego objawy występujące na roślinach i toksyczny wpływ oraz mechanizmy obronne roślin. Wymieniono dwie przyczyny zasolenia gleb (naturalna podatność obszaru na pływy morskie oraz efekty działalności człowieka) oraz dwa rodzaje zasolenia (nagromadzenie w glebie jonów sodowych oraz wysycenie gleb jonami soli fizjologicznych, jako składników mineralnego nawożenia roślin).

Późniejsza interpretacja wyników badań musiała uwzględniać znajomość różnych objawów wysokiej koncentracji soli w glebie, a więc zaburzenia gospodarki wodnej roślin, ale przede wszystkim wzrostu wydłużeniowego organów i metabolizmu komórek. Na rycinie przedstawiono w komunikatywny sposób główne procesy fizjologiczne, fizykochemiczne i biochemiczne u roślin, związane ze stresem solnym. Zwrócono uwagę szczególnie na negatywny wpływ na intensywność fotosyntezy, widoczny jako efekt osmotyczny i jonowy, skutkujące zaburzeniami wielu procesów życiowych roślin. W równie obrazowy, prosty sposób, podobnie do wspomnianej ryciny przedstawiono zachodzące w roślinach pod wpływem stresu solnego zmiany z ich podziałem na szybkość pojawiania się. Do najszybszej reakcji zaliczono redukcję turgoru liści i korzeni, a oczywiście najpóźniej uwidacznia się opóźnione kwitnienie i zmniejszone zawiązywanie nasion. Doktorant wiele uwagi poświęcił opisowi mechanizmów obronnych, uwzględniających trzy typy reakcji roślin i konsekwencji: tolerancji stresu osmotycznego, eliminowaniu jonów Na^+ z wnętrza blaszek liściowych oraz tolerancji tkankowej, uzyskiwanej np. przez akumulowanie jonów sodu lub chlorkowych. Równie interesująco i szczegółowo opisano objawy na wzrastające zasolenie, polegające na obniżaniu lub zwiększaniu zawartości wolnych aminokwasów, węglowodanów, fitohormonów oraz takich związków, jak kwas salicylowy i brassinosteroidy. Omówiony został szlak syntezy, a także związek z reakcją na stres solny i znaczenie dla roślin.

Dużo uwagi poświęcono wybranym obiektom badawczym, a w szczególności charakterystyce biologicznej, gospodarczemu znaczeniu i wiązaniu wolnego azotu gatunków strączkowych. Doktorant przedstawił podstawową systematykę głównych gatunków

grubonasiennych, użytkowanych przez człowieka i ich cechy charakterystyczne – nasion, korzeni, łodyg, kwiatów i owoców, a także scharakteryzował poszczególne gatunki: trzy gatunki łubinu, groch i soję. W tej charakterystyce uwzględnił miejsca pochodzenia, liczbę chromosomów, taksony niższego rzędu, cechy użytkowe i podstawowy skład chemiczny nasion oraz krótką historię udomowienia. Ponieważ badania własne miały znaczenie zarówno poznawcze, jak i aplikacyjne słuszne było zapoznanie się ze znaczeniem gospodarczym gatunków. Podkreślona została zdolność do wiązania azotu atmosferycznego i jej konsekwencje – miejsce i rola w zmianowaniu oraz wysoka zawartość białka w nasionach. Konsekwencją powyższego są zróżnicowane kierunki wykorzystania: nawozowy, paszowy i pokarmowy. Doktorant słusznie zwrócił uwagę na paradoks – brak konieczności nawożenia azotowego i możliwość wykorzystania białka przy niewielkim udziale w strukturze zasiewów i jednocześnie główną przyczynę tego stanu, tj. małą wierność plonowania i w konsekwencji niewystarczającą w porównaniu do zbóż opłacalność uprawy.

Wyróżniająca cecha, jaką jest wiązanie N-atmosferycznego wymaga zapoznania się z przebiegiem tego procesu w warunkach stresu solnego, w tym przy nawadnianiu upraw strączkowych wodą morską. Ten typ wody może być przydatny do nawadniania i nawożenia roślin strączkowych. Pomimo dużej ilości chlorku sodu (konieczne usunięcie) zawiera ona niewielkie ilości azotu (strączkowe zaopatrują się same), natomiast dużo niezbędnych mikroskładników. Doktorant słusznie zwrócił uwagę, że w porównaniu do pozostałych grup roślin, gatunki strączkowe mogą dodatkowo być narażone na stres solny poprzez negatywny wpływ na symbiozę z bakteriami korzeniowymi. Tu w syntetyczny, ale pełny sposób przedstawiono możliwy-ujemny wpływ zasolenia na poszczególne etapy zasiedlenia korzeni przez bakterie: tworzenie korzeni, komunikacja roślina – rizobia, formowanie bakteriodów i stan funkcjonalny brodawek.

W podsumowaniu tej wstępnej części rozprawy zwracam uwagę na bardzo dobre, teoretyczne przygotowanie Doktoranta, znajomość bogatej bibliografii (175 pozycji) i jej umiejętne, przyjazne dla czytelników opracowanie.

Weryfikacja doświadczalna przyjętych hipotez wymagała właściwego wyboru materiału i metod. Bardzo pomocne były wstępne doświadczenia rozpoznawcze, pozwalające np. wybrać gatunki i odmiany. Ostatecznie do doświadczeń włączono odmiany 4 gatunków (4 odmiany łubinu żółtego, 1 odmiana łubinu wąskolistnego, 4 odmiany grochu, 1 odmiana soi), mniej wrażliwe na działanie jonów soli. Co ważne wybór uwzględnił także charakterystykę użytkową i najważniejszych cech rolniczych odmian. Łącznie przeprowadzono 8 doświadczeń, które przedstawiono zarówno syntetycznie w tabelach, jak i w formie opisu

szczegółowego z uwzględnieniem materiału, warunków realizacji doświadczenia, a także hipotezy i celu, których doświadczenie dotyczyło. Uzupełnienie stanowił opis warunków i miejsca przeprowadzonych doświadczeń, zarówno szklarniowych, jak i w tunelu foliowym w warunkach zbliżonych do naturalnych. Na zakończenie rozdziału „Materiał i metody” opisano analizy fizjologiczne i biochemiczne przeprowadzone w badaniach własnych – ich charakterystykę i przydatność, sposób interpretacji wyników i wykonania obliczeń. Były to bardzo liczne i zróżnicowane analizy - od pomiarów przyrostu masy roślin, wymiany gazowej, licznych parametrów fluorescencji chlorofilu, stężenia elektrolitów, aktywności enzymów antyoksydacyjnych po analizy statystyczne. Ta część dysertacji zwraca uwagę na bardzo szerokie podejście Doktoranta do weryfikacji postawionych hipotez oraz precyzyjne przygotowanie i realizację badań.

Konsekwencją powyższego był bardzo bogaty materiał wynikowy, przedstawiony na 60 stronach maszynopisu i skonfrontowany w Dyskusji z dostępną bibliografią.

Wcześniejsze badania wskazywały na duże zróżnicowanie w reakcji gatunków na stres solny, zarówno pod względem terminu objawów, jak i tkanki roślinnej. Doktorant potwierdził, że u roślin strączkowych stres solny powoduje spadek masy roślin przede wszystkim części nadziemnej, a w mniejszym stopniu korzeni. Wykazano niewielką wrażliwość bakterii korzeniowych na stres solny. Dodatkowe wyniki wskazywały zarówno na stężenia soli graniczne dla przeżycia roślin, jak i niski poziom ich koncentracji, skutkujący stymulacją kiełkowania nasion i przyrostu masy roślin. Ważnym wynikiem, szczególnie dla rekultywacji gleb zasolonych było stwierdzenie, że negatywny wpływ na rośliny może być eliminowany poprzez wzbogacenie gleb w materię organiczną. Końcowym efektem tego etapu badań było uszeregowanie gatunków i odmian pod względem wrażliwości na stres zasolenia, mierzonej wielkością przyrostu masy roślin.

W badaniach nad wpływem zasolenia na aktywność antyoksydacyjną roślin uzyskano także kilka wartościowych wyników i spostrzeżeń. Uszeregowano gatunki pod względem wzrastającej wrażliwości na stres zasolenia, wykazując najwyższą aktywność enzymów antyoksydacyjnych w grochu. Wobec braku wcześniejszych danych literaturowych oryginalnym wkładem Doktoranta jest stwierdzenie braku stymulacji aktywności trzech głównych enzymów - SOD, CAT i POX u łubinów. Także oryginalne, przy nieujednoliconych poglądach innych badaczy jest stwierdzenie ochronnej roli proliny – jej zwiększonych stężeń w komórkach roślin przy wzrastającym zasoleniu gleby.

W dyskusji dotyczącej wpływu zasolenia na stan aparatu fotosyntetycznego oraz wymianę gazową roślin zwraca uwagę głęboka znajomość złożonych procesów związanych z

fotosyntezą. Doktorant szczegółowo omówił wpływ, jaki może mieć zasolenie środowiska glebowego na aktywność fotosyntezy netto, transpirację, przewodnictwo szparkowe i biosyntezę barwników fotosyntetycznych. Zacytowane zostały wyniki wcześniejszych badań, wskazujące na genetyczne różnice międzyodmianowe u tego samego gatunku, a więc na możliwość wykorzystania wskaźnika intensywności fotosyntezy w hodowli odmian przydatnych do uprawy na terenach zasolonych. W badaniach własnych wykazano niewielkie zmiany wartości parametrów fluorescencji chlorofilu. Doktorant postawił wniosek o wysokiej sprawności aparatu fotosyntetycznego i mniejszej roli fotosyntezy w ograniczeniu wpływu zasolenia. Tą część dyskusji wyników także kończy uszeregowanie gatunków i odmian pod względem wrażliwości na stres zasolenia, a stanem aparatu fotosyntetycznego.

Podobnie do poprzedniej części badań szczegółowo omówiono proces pobierania przez rośliny składników mineralnych w warunkach zasolenia odnosząc się do bogatej bibliografii. Badania własne doprowadziły do dwu spostrzeżeń: dużego wpływu rodzaju podłoża na uzyskane wyniki ze wskazaniem na lepszą przydatność podłoża glebowego w porównaniu do perlitu oraz małej przydatności oceny zmian składu mineralnego roślin w ocenie podatności gatunkowej na stres solny.

Kolejna część badań dotyczyła poszukiwania możliwości łagodzenia stresu solnego z wykorzystaniem naprzemiennego podlewania wodą zasoloną i wolną od soli lub preparatów stymulujących – przeciwdziałających lub łagodzących efekty stresu. Tu należy docenić i wyróżnić podjęcie tych badań przez Doktoranta wobec braku wcześniejszych danych literaturowych. W pierwszym podejściu nie stwierdzono łagodzącego wpływu przerywania działania warunków stresu. Ponad to słusznie zwrócono uwagę na brak opłacalności dostarczania czystej – neutralizującej wody do nawadniania terenów zasolonych. Testowanie substancji stymulujących wykazało indywidualny dla gatunku rośliny charakter działania. Stwierdzono np. ich pozytywny wpływ na stan membran cytoplazmatycznych w łubinie żółtym oraz zawartość proliny w grochu.

Szczegółowo przygotowane dla przyjętych celów badania, właściwie postawione hipotezy i precyzyjnie zrealizowane doświadczenia zapewniły uzyskanie wartościowych wyników, a po ich podsumowaniu sformułowanie ważnych wniosków. Gatunki z rodziny strączkowych okazały się zbyt silnie zróżnicowane, aby znaleźć wspólne wskaźniki wrażliwości na stres – fizjologiczne, czy też biochemiczne. Takim wspólnym wskaźnikiem okazała się być jedynie zawartość wolnej proliny (zwiększająca się pod wpływem zasolenia), ale już wzrost stężenia ABA u roślin poddanych działaniu stymulatorów był gatunkowo specyficzny. Możliwe natomiast było uszeregowanie badanych gatunków pod względem

wrażliwości na stres solny oraz wskazanie gatunkowo specyficznych parametrów drażliwości. Niestety wśród badanych biostymulatorów nie znaleziono takich, które powodowałyby wyraźną poprawę kondycji roślin. Natomiast ważnym wynikiem, świadczącym na korzyść badanych gatunków było wykazanie braku wyraźnego, negatywnego wpływu stresu solnego na funkcjonowanie procesu symbiozy roślin z bakteriami korzeniowymi.

W ocenie opracowania redakcyjnego dysertacji zwraca uwagę zarówno przejrzysta struktura, jak i komunikatywny język oraz szata graficzna (11 rysunków, 53 tabele). Rozprawa obejmuje 178 stron maszynopisu w tym około 30 stron poświęconych przeglądowi literatury i ponad 80 stron omawiających i podsumowujących uzyskane wyniki. Zapoznanie się z rozprawą i wynikami ułatwia wykaz stosowanych terminów i skrótów, spis rysunków i tabel oraz 175 pozycji literatury. Rozprawę kończy streszczenie w języku polskim i angielskim. Niepotrzebnie wprowadzono zmiany w nazewnictwie dwu pierwszych rozdziałów: wstęp nazwano wprowadzeniem, a przegląd literatury wstępem. Co to dało i jaka jest różnica między nazwami tych rozdziałów? Można wymienić kilka innych uwag krytycznych, wymagających wyjaśnienia, np.:

- przy omawianiu znaczenia gospodarczego roślin strączkowych niewiele uwagi poświęcono użytkowaniu warzywnemu,
- na str. 37 napisano, że w państwach starej UE stosowane są dopłaty bezpośrednie do uprawy roślin strączkowych. Nie wspomniano, że takie dopłaty stosuje się też w Polsce od 2010 roku. Jakie Doktorant widzi inne działania dla zwiększenia powierzchni uprawy tych roślin,
- głównym źródłem białka w paszach jest śruta sojowa, a nie mączka. Jaka jest różnica między tymi „produktami”?,
- jak napisano materiałem badawczym były polskie odmiany pochodzące z IHAR i RZD w Dłoni. Należało podać precyzyjnie miejsce pochodzenia odmian, tj. nasiona najwyższych stopni odsiewu pochodzące od hodowcy – firmy będącej właścicielem odmiany,
- w przypadku trzech odmian łubinu żółtego (Dukat, Baryt, Taper) podano, że są to odmiany tradycyjne, samokończące. Te modele odmian wykluczają się. Tradycyjną jest niesamokończąca odm. Mister, Dukat i Baryt, a samokończącą Taper,
- trochę „bałaganu” zawiera omówienie taksonomii roślin bobowatych. Doktorant stosuje wymiennie nazwę bobowate i strączkowe oraz błędne nazwy łacińskie niektórych gatunków. Groch siewny to tylko jeden gatunek *P. sativum* i powinno być *Lens culinaris*,


Cicer arietinum L., *Glycine max*. Dla poprawnej nazwy rodziny botanicznej i użytkowej odsyłam do wydawnictwa *Legumes of the World*, 2005, Kew oraz zaleceń International Code for Botanical Nomenclature,

– termin „kontrola” to żargon naukowy i skrót myślowy.

Podsumowując w całości, recenzowaną dysertacją oceniam bardzo wysoko, zarówno postawiony cel i hipotezy, przygotowanie i przeprowadzenie doświadczeń, ale przede wszystkim uzyskane wyniki. Stanowią one istotny wkład do wiedzy o reakcji roślin strączkowych na zasolenie i jako nowatorskie są ważne dla właściwego ukierunkowania dalszych badań. Rozprawa Pana mgr Macieja Maciejewskiego spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w ustawie z 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2014 r. poz. 1852). Wnioskuje do Rady Naukowej Instytutu Fizjologii Roślin im. F. Górskiego PAN w Krakowie o dopuszczenie Pana mgr M. Maciejewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Stawiam także wniosek o wyróżnienie rozprawy, przede wszystkim ze względu na nowatorski charakter przeprowadzonych badań oraz wartość uzyskanych wyników. Do najważniejszych zaliczam wskazanie, które z parametrów i cech roślin strączkowych reagowały na zasolenie najsilniej, a które najslabiej i które były gatunkowo specyficzne oraz stwierdzenie, że kumulacja proliny jest miarą stresu, a nie reakcji obronnej roślin. Duże znaczenie ma wykrycie małej wrażliwości brodawek korzeniowych na zasolenie, a znaczenie praktyczne – korzystnego wpływu wzbogacania w próchnicę w rekultywacji gleb zasolonych.

Poznań, 25 sierpnia 2016 r.


Prof. dr hab. Wojciech Święcicki