

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Marii Tatrzańskiej-Matuły pt. „Zbadanie fizjologicznych mechanizmów tolerancji wybranych gatunków jednoliściennych roślin uprawnych na wysokie zasolenie gleby”, wykonanej pod kierunkiem Prof. dr hab. Agnieszki Płazek z Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja

Rośliny są często narażone na różnego rodzaju stresy abiotyczne, takie jak zasolenie podłoża, deficyt lub nadmiar wody, deficyt tlenu w podłożu, stres termiczny, uszkodzenia mechaniczne, zanieczyszczenia metalami ciężkimi (ołów, kadm, miedź, nikiel, rtęć), niedobór azotu lub jego nadmiar, a w szczególności formy amonowej, różnego rodzaju ksenobiotykami, jak np. ropopochodne węglowodory alifatyczne i aromatyczne, pestycydy, detergenty i stresy biotyczne spowodowane infekcją przez patogeny (bakterie i grzyby) i żerowanie owadów. Rośliny reagują na stresy abiotyczne i biotyczne zmianami metabolicznymi w zależności od rodzaju stresu i gatunku rośliny, a nawet w obrębie gatunku. Niektóre gatunki roślin powodują większą zdolność do pobierania ze środowiska różnego rodzaju ksenobiotyków i degradacji ich do związków nieszkodliwych lub mniej szkodliwych. Związane to jest z uruchamianiem lub wzmożoną aktywnością w roślinach różnych metabolicznych systemów obronnych. Stwarza to nawet możliwość wykorzystania roślin do procesów oczyszczania środowiska z toksycznych, organicznych i nieorganicznych substancji.

Mgr Maria Tatrzańska-Matuła, pod kierunkiem Prof. dr hab. Agnieszki Płazek, podjęła wielokierunkowe badania nad reakcją kilku gatunków roślin uprawnych, pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum*), pszenicy twardej (*Triticum durum*), kukurydzy (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum bicolor*) i miskanta olbrzymiego (*Miscanthus x giganteus*), na zróżnicowane zasolenie poprzez analizę parametrów wzrostu i rozwoju roślin, i wrażliwość niektórych procesów fizjologicznych i biochemicznych, co mogłoby wskazywać na mechanizmy obronne inicjowane w tych roślinach pod wpływem zasolenia. Badano czy istnieje możliwość częściowego przeciwdziałania skutkom stresu solnego poprzez traktowanie roślin niektórymi biostymulatorami czy też poprzez przemienne podlewanie wodą zasoloną i zwykłą kranową.

W przeglądzie literatury, liczącym 35 stron, Autorka omówiła wiele czynników i procesów takich jak problem zasolenia gleby na świecie i przyczyny jego powstawania, wpływ zasolenia gleby na wzrost i rozwój roślin, i na procesy fizjologiczne i biochemiczne, takie jak: odwodnienie tkanek, zaburzenia gospodarki jonowej, wpływ na procesy fotosyntezy, zahamowanie transportu asymilatów, zwiększone wytwarzanie reaktywnych

form tlenu, utlenianie lipidów, przewodność aparatów szparkowych, zawartość chlorofilu i karotenoidów, kinetykę fluorescencji chlorofilu „a”, zawartość aminokwasów i białek, zawartość węglowodanów. Opisano mechanizmy obronne roślin na zasolenie, m.in. mechanizmy regulujące transport jonów, neutralizację reaktywnych form tlenu przez systemy nie enzymatyczne (kwas askorbinowy, glutation, karotenoidy, antocyjany) i enzymatyczne (dysmutaza ponadtlenkowa, katalazy, peroksydazy), wytwarzanie aminokwasów i białek obronnych (osmotyny, dehydryny, białka typu LEA), rolę kwasu abscysynowego w transporcie jonów. Z kolei przedstawiono ogólną charakterystykę niektórych biostymulatorów roślinnych (epibrasinolid, zearalenon, preparat Asahi SL), tych, które zostały zastosowane w badaniach własnych. Omówiono charakterystykę badanych roślin jednoliściennych (pszenicy zwyczajnej i twardej, kukurydzy, sorgo i miskanta) pod względem uprawy i budowy morfologicznej.

Przegląd literatury został właściwie opracowany i ma ścisły związek z podjętymi badaniami, ale Cel pracy jest bardzo ogólny, bo informacja, że badania będą dotyczyć wpływu zasolenia na parametry fizjologiczne i biochemiczne właściwie nie mówi o tym jakie badania będą podjęte.

Doktorantka stosowała różne techniki i metody badawcze, które zostały przejrzysto opisane w rozdziale Materiał i metody, poczynwszy od uprawy i traktowania roślin do stosowanych metod fizjologicznych i biochemicznych. Wszystkie gatunki roślin uprawiano w kontrolowanych warunkach szklarniowych i w specjalnie przygotowanych basenach, warunki uprawy, składu podłoża pod względem zawartości składników mineralnych i traktowania roztworem NaCl o stężeniu w granicach 0 – 150 mM, zostały szczegółowo opisane. Na podkreślenie zasługuje opracowanie przez Doktorantkę odpowiednich układów doświadczalnych. Doktorantka stosowała w swoich badaniach wiele różnych metod, poczynwszy od pomiaru świeżej i suchej masy do ogólnie przyjętych metod fizjologicznych i biochemicznych, takich jak: pomiar relatywnej turgorescencji i relatywnej zawartości wody, wpływ elektrolitów, wydajność fotosyntezy netto, transpirację, przewodnictwo szparkowe, kinetykę fluorescencji chlorofilu „a”, zawartość chlorofilu „a” i „b”, zawartość białka, aktywność enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy), peroksydację lipidów, zawartość proliny, poziom kwasu abscysynowego, zawartość cukrów rozpuszczalnych i zawartość składników mineralnych.

Wyniki badań analizowano za pomocą oprogramowania 9.0 Statistica, stosując wieloczynnikowy test ANOVA, a różnice między średnimi analizowano według wielokrotnego testu Duncana.

Badania własne Doktorantka rozpoczęła od wpływu różnych stężeń NaCl na kiełkowanie, w najmniejszym stopniu na zasolenie reagują ziarniaki pszenicy twardej, a najbardziej wrażliwe na zasolenie są nasiona sorgo cukrowego i kukurydzy. Odmiany Bogatka i Banderola pszenicy zwyczajnej były bardziej wrażliwe na zasolenie gleby niż odmiana Komnata i ród 121 pszenicy twardej pod względem współczynnika SSI, natomiast pod względem wzrostu „kiełków” odmiana Banderola jest najbardziej tolerancyjna na zasolenie w porównaniu z innymi odmianami pszenic.

Najprostszym kryterium pomiaru wpływu zasolenia na wzrost i rozwój roślin jest przyrost biomasy. Przyrost suchej masy części nadziemnej najbardziej odzwierciedlał reakcje wszystkich badanych roślin na zasolenie w porównaniu z przyrostem masy korzeni. Kłacza miskanta olbrzymiego były bardziej tolerancyjne na zasolenie niż liście.

Stwierdzono, że odmiany pszenicy twardej wykazywały większy wpływ elektrolitów niż odmiany pszenicy zwyczajnej, a w przypadku sorga i kukurydzy nie było zwiększonego wpływu elektrolitów pod wpływem zasolenia.

Zasolenie nie spowodowało negatywnych zmian w wydajności fotochemicznej PS II aparatu fotosyntetycznego, a niekiedy nawet wzrost tego parametru u wszystkich badanych gatunków. Pod wpływem zasolenia stwierdzono obniżenie intensywności fotosyntezy netto u wszystkich badanych roślin i zwiększoną akumulacją jonów Na^+ w roślinach.

Szczegółowo przedstawiono poszczególne parametry charakteryzujące fluorescencje chlorofilu „a” i wymianę gazową w liściach badanych roślin.

Interesujące wyniki otrzymano pod wpływem zasolenia na akumulację proliny w poszczególnych gatunkach roślin, pszenica zwyczajna i twarda zawierały podwyższoną zawartość proliny, a kukurydza i sorgo nie akumulowały zwiększonej zawartości proliny, natomiast miskant wytwarzał w liściach wielokrotnie więcej proliny po zasoleniu podłoża.

Badano aktywność enzymów systemu antyoksydacyjnego, dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i peroksydazy w liściach kukurydzy i sorga pod wpływem zasolenia podłoża, wysokie stężenie NaCl powodowało wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy w liściach kukurydzy, a obniżenie aktywności tych enzymów w liściach sorgo, aktywność peroksydazy niespecyficycznej pozostawała bez zmian w tych gatunkach roślin po zasoleniu podłoża.

Zastosowane biostymulatory roślinne (epibrasinolid, zearalenon, preparat Asahi SL), nie przeciwdziałały efektowi zasolenia na przyrost świeżej i suchej masy badanych gatunków roślin, ale Asahi SL i zearalenon stymulowały wzrost korzeni pszenicy zwyczajnej, kukurydzy i sorga. Stosowane preparaty oddziaływały na niektóre inne procesy fizjologiczne i biochemiczne (wpływ elektrolitów, zawartość chlorofilu, proliny, cukrów rozpuszczalnych i zawartość kwasu abscysynowego), np. w roślinach pszenicy zwyczajnej i twardej następował kilkakrotny wzrost zawartości proliny pod wpływem traktowania zearalenonem. Wyniki badań nad wpływem epibrasinolidu, zearalenonu i Asahi SL dostarczają wiadomości jak te preparaty oddziałują na niektóre parametry fizjologiczne i biochemiczne u roślin uprawianych w warunkach zasolenia, ale dla pełnego układu doświadczalnego podobne badania powinny być przeprowadzone na roślinach uprawianych w podłożu bez zasolenia. Czy oddziaływanie stosowanych preparatów na badane procesy jest podobne czy też odmienne w roślinach rosnących w podłożu bez zasolenia i w podłożu zasolonym?

Przemienne podlewanie roślin wodą słoną i zwykłą kranową w niewielkim stopniu łagodziło skutki zasolenia podłoża na wzrost roślin i badane parametry fizjologiczne i biochemiczne.

Zakres badań przedstawiony w pracy doktorskiej mgr Marii Tatrzeńskiej-Matuły jest duży i moim zdaniem za duży pod względem materiału doświadczalnego, tj. liczby gatunków i odmian, trudny do wykonania, opisanie i dyskusji. Należy podkreślić wielokierunkowe podejście metodyczne. Przeprowadzone badania i otrzymane wyniki są oryginalne, ważne, mają charakter podstawowy i praktyczny (przeciwdziałanie skutkom zasolenia), ale nie jest łatwo wyjaśnić fizjologiczne mechanizmy tolerancji roślin na wysokie zasolenie podłoża i przeciwdziałać skutkom zasolenia. Wyniki badań zostały przedyskutowane z literaturą z zakresu badań nad mechanizmami szkodliwego działania zasolenia podłoża na wzrost i rozwój roślin.

Jest dla mnie niezrozumiałe dlaczego w rozdziale 7. " Podsumowanie i wnioski „, brak jest informacji o wynikach dotyczących analizy aktywności enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadlenkowej, katalazy, peroksydazy), zawartości białka, cukrów rozpuszczalnych, kwasu abscysynowego i innych badanych parametrów, analizowanych w związku z zasoleniem podłoża? Trzeba dodać, że w rozdziale tym brak jest wniosku 10, a jest ich 11, pomyłka w numeracji czy wniosek 10 nie został zamieszczony?

Streszczenie pracy jest bardzo ogólne i nie odzwierciedla zakresu badań, nie daje informacji o większości uzyskanych wyników.

Nasuwać się też inne uwagi krytyczne do pracy, typu redakcyjnego:

- Rys. 1, 2, 3, 4, tj. budowy morfologicznej pszenicy zwyczajnej, twardej, kukurydzy i sorgo są wzięte z Wikipedii i innych elektronicznych źródeł, ale wszystkie rysunki są nieczytelne, czy nie można było wykonać własne czytelne zdjęcia czy rysunki?,
- niektóre pozycje literatury nie są podane w porządku alfabetycznym,
- w spisie literatury praca Ashraf (2001) jest podwójnie wymieniona,
- w kilku przypadkach pierwsze litery w tytule prac wykazanych w Literaturze są pisane z dużych liter; należy przyjąć jednakowy zapis niezależnie od zapisu tytułu pracy w oryginale,
- forma zapisu pozycji książkowych i monografii, w przypadku gdy są podawane tytuły rozdziałów jest różna, italic lub druk prosty,
- pisownia niektórych nazw łacińskich jest nieprawidłowa, np. w przypadku *Phaseolus vulgaris* (str. 121) , *Horticulturac* (str. 127, 130, 117),
- powinno być Zeszyty Problemowe (jest Zeszyt Problemowy) – str. 130,
- zamiast pomiaru kielków, np. pszenicy powinno się używać nazwy botanicznej tej części rośliny,
- wiele sformułowań w pracy jest nieprawidłowych, np. typu „świeża masa pędów również zmniejszyła się w roślinach pszenicy twardej...”, „... w wyniku zasolenia zmniejszyła się liczba komórek szparkowych...”, „najlepiej w zasolonym podłożu kielkują ziarniaki pszenicy twardej”,
- jest Xiong i in. 2002 powinno być Xiong i Zhu 2002,
- jest wiele niepoprawionych błędów maszynowych,
- lepiej używać „doświadczenie” niż „eksperyment”,
- tytuły wykresów powinny być pod wykresami (Wykresy 1 – 4).

Podsumowując, praca doktorska mgr Marii Tatrzeńskiej-Matuły wnosi nowe wartości poznawcze do mechanizmów szkodliwego działania zasolenia podłoża u kilku gatunków roślin jednoliściennych ważnych gospodarczo, Doktorantka zna literaturę przedmiotu, opanowała różne metody badawcze, potrafi krytycznie dyskutować własne wyniki z literaturą z tego zakresu.

Przedstawiając usterki i niedociągnięcia, nawet niektóre drobne, chcę uczulić Doktorantkę na sposób pisania prac, bo obowiązują określone reguły i należy je przestrzegać. Jestem przekonany, że Autorka tej pracy doktorskiej nie popełni takich dowolności i innych

błędów przy opracowywaniu wyników badań do druku w czasopismach. Praca doktorska to nie tylko otrzymanie wyników, ale właściwe ich opracowanie pod każdym względem.

Praca doktorska mgr Marii Tatrzańskiej-Matuły, mimo niewątpliwych usterek, przede wszystkim redakcyjnych, spełnia warunki stawiane pracom doktorskim i wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o przyjęcie pracy i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Skierniewice, 15.01.2016 r.



Prof. dr hab. Marian Saniewski