

prof. dr hab. Robert Biczak

Częstochowa, dn. 12.11.2024 r.

Uniwersytet Jana Długosza w Częstochowie

Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych

Katedra Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii

Al. Armii Krajowej 13/15

42-200 Częstochowa

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Piotra Ptaka

pt.: Reakcja fizjologiczna pomidora zwyczajnego (*Lycopersicon esculentum* Mill.) na podwyższone stężenie soli w warunkach zróżnicowanego żywienia krzemem i selenem

Recenzja została przygotowana w odpowiedzi na pismo Pana dr hab. inż. Pawła Milczarskiego, prof. ZUT, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Przesłana do oceny rozprawa doktorska mgr Piotra Ptaka została wykonana na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Promotorem rozprawy jest Pani dr hab. inż. Małgorzata Mikiciuk, prof. ZUT, zatrudniona w Katedrze Bioinżynierii.

Oceniana rozprawa doktorska dotyczy bardzo interesujących, a jednocześnie ważnych naukowo zagadnień związanych z możliwością ograniczenia skutków stresu solnego u roślin, na skutek zaopatrzenia ich w krzem i selen. Do badań wykorzystano pomidora zwyczajnego (*Lycopersicon esculentum* Mill.) odmiany Roquetero F1, rosnącego w warunkach podwyższonego stężenia NaCl w hydroponikach. Jednym z najważniejszych abiotycznych czynników wywołujących stres oksydacyjny u roślin wyższych jest bez wątpienia podwyższona zawartość soli w podłożu. Poziom zasolenia gleby wyznaczany jest na podstawie stężenia składników mineralnych w roztworze glebowym, a dotyczy to głównie chlorku sodu – NaCl. Nadmiar soli prowadzi do zachwiania proporcji pierwiastków występujących w glebie, co może skutkować istotnymi zmianami właściwości fizykochemicznych gleb, które znacznie ograniczają możliwości pobierania składników pokarmowych przez rośliny. Nadmierne

wysalanie gleb, będące przede wszystkim efektem bezpośrednich, jak i pośrednich działań antropogenicznych, prowadzi do degradacji gleb, która jak na podstawie dostępnych danych podaje Autor dysertacji, do 2050 roku może objąć 50% globalnych gruntów ornych. Powierzchnia gruntów zasolonych rokrocznie ulega zwiększeniu, a największy problem nadmiernego zasolenia występuje przede wszystkim na obszarach suchych i półsuchych oraz nawadnianych wodą morską. W strefie klimatu umiarkowanego zasolenie jest natomiast najczęściej spowodowane niezrównoważonym nawożeniem. Ponadto, w okresie zimowym, obszary silnie zurbanizowane narażone są na działanie soli stosowanych powszechnie jako środek zmniejszający śliskość nawierzchni.

Wpływ podwyższonego stężenia soli w podłożu może stanowić przyczynę zmian o charakterze morfologicznym, anatomicznym, fizjologicznym i metabolicznym, które prowadzą do ograniczenia wzrostu i produktywności roślin, co w przypadku roślin uprawnych oznacza mniejszy plon, straty wartości odżywczych, a w aspekcie ekonomicznym straty na poziomie około 27 miliardów dolarów amerykańskich rocznie. W związku z powyższym od wielu lat podejmowane są próby poszukiwania metod i środków uprawy, których celem byłoby złagodzenie skutków stresu solnego u roślin. Do stosunkowo dobrze rokujących zabiegów agrotechnicznych zaliczyć można wykorzystanie zaopatrzenia roślin w niektóre pierwiastki, takie jak krzem i selen. Według wielu autorów, mechanizmy korzystnego oddziaływania selenu i krzemu opierają się na właściwościach antyoksydacyjnych tych pierwiastków, jednak ich rola w odpowiedzi roślin na stres solny nie została dostatecznie poznana, co otwiera możliwości prowadzenia intensywnych badań naukowych w tym kierunku.

Dokładnie w te trendy naukowe wpisuje się praca doktorska mgr Piotra Ptaka. Podjęte i zrealizowane przez Doktoranta badania, których celem była ocena możliwości zastosowania odżywiania mineralnego krzemem i selenem w ograniczeniu skutków stresu solnego dla roślin pomidora zwyczajnego uprawianego w warunkach hydroponiki, uważam za niezwykle aktualne i ważne naukowo.

Formalna ocena rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska Pana mgr Piotra Ptaka pt. „Reakcja fizjologiczna pomidora zwyczajnego (*Lycopersicon esculentum* Mill.) na podwyższone stężenie soli w warunkach zróżnicowanego żywienia krzemem i selenem” została przygotowana w oparciu o oryginalne wyniki badań własnych. Rozprawa liczy 126 ponumerowanych stron i zgodnie z układem prac doktorskich została podzielona na 11 części. Są to: Abstract, Streszczenie, Wstęp, Przegląd piśmiennictwa, Materiał i metody badań, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Bibliografia oraz Aneks

zawierający spis fotografii, rycin i tabel zamykający ocenianą dysertację. Wykorzystana przy pisaniu pracy doktorskiej literatura obejmuje 189 pozycji, z czego aż 176 to pozycje anglojęzyczne. Na uwagę zasługuje tutaj fakt, że ponad 130 pozycji cytowanej literatury zajmują artykuły naukowe opublikowane w ostatnich 10 latach. Jestem głęboko przekonany, że tak obszerna i profesjonalnie dobrana literatura na pewno była bardzo pomocna w przygotowaniu prawidłowej dyskusji wyników badań własnych Doktoranta. Praca doktorska zawiera 4 fotografie, 43 tabele i 57 rycin prezentujących opracowane statystycznie wyniki badań. Praca napisana jest językiem poprawnym stylistycznie, co bardzo ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z zawartością ocenianej dysertacji.

Merytoryczna ocena rozprawy doktorskiej

Rozpoczynając ocenę rozprawy doktorskiej Pana mgr Piotra Ptaka pod względem merytorycznym należy stwierdzić całkowitą zgodność treści pracy z jej tematem. Streszczenia pracy doktorskiej, zarówno w języku angielskim, jak i polskim, skrótowo przedstawiają najważniejsze informacje, które można znaleźć w pozostałych rozdziałach dysertacji.

Kolejnym rozdziałem pracy jest Wstęp, w którym Autor wprowadza czytelnika w problematykę podjętych badań naukowych, wskazując jak ważne znaczenie dla prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin uprawnych ma monitorowanie stopnia zasolenia gleb, które może prowadzić nie tylko do zmniejszenia plonów, ale radykalnie pogorszyć ich wartość odżywczą. W ramach tego rozdziału Pan mgr Piotr Ptak formułuje niejako cel pracy, którym jest charakterystyka fizjologiczno-biochemicznej reakcji roślin pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill.) na podwyższone stężenie soli w środowisku oraz ocenę skuteczności oddziaływania selenu i krzemu w redukcji stresu solnego. Powyższy cel, jak również ocenę przydatności zastosowanych fizjologicznych i biochemicznych metod badawczych do opisu stanów stresowych roślin, zrealizowano dokonując weryfikacji trzech hipotez badawczych:

- zróżnicowane stężenie NaCl środowiska wpływa na cechy fizjologiczno-biochemiczne roślin gatunku *Lycopersicon esculentum* Mill.,
- selen wpływa na parametry fizjologiczno-biochemiczne roślin poddanych działaniu stresu solnego,
- krzem oddziałuje na cechy fizjologiczno-biochemiczne roślin poddanych działaniu stresu solnego.

Wydaje się jednak, że wyróżnienie w osobnym rozdziale zarówno celu pracy doktorskiej, jak i hipotez działałoby na korzyść ocenianej dysertacji.

Rozdział zatytułowany: Przegląd piśmiennictwa, przygotowany i napisany w oparciu o obszerną fachową bibliografię składa się z czterech podrozdziałów: Przyczyny nadmiernego stężenia soli i jego wpływ na rośliny, Znaczenie krzemu, Znaczenie selenu i Charakterystyka gatunku i znaczenie gospodarcze pomidora zwyczajnego. W pierwszym podrozdziale Doktorant zaprezentował najważniejsze przyczyny postępującego nadmiernego zasolenia gleb na kuli ziemskiej oraz skutki takiego stanu rzeczy dla wzrostu i rozwoju roślin, w tym również roślin uprawnych. Podrozdział kończą informacje dotyczące mechanizmów obronnych roślin i związanym z tym stopniem odporności roślin na stres solny, co jest m.in. ich cechą gatunkową. Kolejne dwa podrozdziały Autor poświęcił omówieniu możliwych dróg wsparcia mechanizmów odporności roślin, do których zaliczyć można odpowiednie odżywianie mineralne roślin, w przypadku dysertacji dotyczyło to krzemu i selenu. W ostatnim podrozdziale znaleźć można szczegółową charakterystykę pomidora zwyczajnego i jego gospodarczego znaczenia. W tym rozdziale znajdujemy również powód wykorzystania przez Pana mgr Piotra Ptaka pomidora jako rośliny eksperymentalnej ze względu chociażby na fakt, że pomidor jest uznawany za dobrą roślinę wskaźnikową do oceny wpływu nadmiernego stężenia soli na procesy fizjologiczne zachodzące w roślinach.

Realizacja założonego celu pracy doktorskiej wymagała od Autora zaplanowania i przeprowadzenia badań. Badania zostały przeprowadzone w latach 2015-2017 i składały się z dwóch niezależnych (A+B) dwuczynnikowych doświadczeń hydroponicznych. W obu eksperymentach pierwszym czynnikiem było stężenie chlorku sodu w pożywce równe: 50, 75 i 100 mmol NaCl · dm⁻³, drugim zaś stężenie selenu (doświadczenie A) wynoszące 5 i 10 μmol Na₂SeO₄ · dm⁻³ lub stężenie krzemu (doświadczenie B) obejmujące dwie dawki: 1,5 i 3 mmol Na₂SiO₃ · 5H₂O · dm⁻³. Kontrolę stanowiła uprawa hydroponiczna pomidora zwyczajnego na pełnej pożywce Hoaglanda. Doświadczenia wegetacyjne przeprowadzono w komorze wzrostowej w kontrolowanych warunkach temperatury +25 °C, wilgotności powietrza 60%, fotoperiodu 12/24h oraz natężenia PAR 1000 μmol · m⁻² · s⁻¹. W rozdziale Materiały i metody badań znajduje się również szczegółowy i profesjonalny opis właściwie dobranych i niebudzących żadnych zastrzeżeń merytorycznych metodyk analitycznych. Wybrane cechy fizjologiczne i biochemiczne roślin pomidora zwyczajnego oznaczono po upływie 48 i 96 godzin oraz 7, 14 i 28 dni od ekspozycji roślin na czynniki doświadczalne. Pomiar biometryczny roślin przeprowadzono zaś jednokrotnie po upływie 28 dni. W ramach badań laboratoryjnych określono zawartość chlorofilu a, b i całkowitego, karotenoidów, parametry wymiany gazowej roślin, parametry fluorescencji chlorofilu, wskaźnik względnej zawartości

wody w liściach (RWC), wyciek elektrolitów z tkanek, powierzchnię asymilacyjną liści, zawartość potasu, sodu, wapnia i magnezu, poziom wolnej proliny oraz zmiany aktywności katalazy i peroksydazy.

Otrzymane wyniki zostały poddane szczegółowej analizie statystycznej przy użyciu programu STATISTICA 12.5. Ocenę statystyczną wyników przeprowadzono metodą dwuczynnikowej analizy wariancji, istotność różnic pomiędzy wartościami weryfikowano na podstawie testu Duncana.

Najważniejszą częścią każdej rozprawy doktorskiej jest omówienie wyników badań i przeprowadzenie rzetelnej ich dyskusji z rezultatami uzyskanymi przez innych naukowców. I w tym przypadku należy stwierdzić, że Pan mgr Piotr Ptak stanął na wysokości zadania. Prawidłowo zaplanowany eksperyment i starannie wykonane analizy zaskutkowały uzyskaniem olbrzymiej ilości istotnych wyników, które zostały zaprezentowane w 42 tabelach i zobrazowane na 56 rycinach, a całość rezultatów została szczegółowo opisana na 68 stronach maszynopisu. Taki układ pracy pozwolił na dokładne i zrozumiałe przedstawienie dużej ilości danych uzyskanych w ramach omawianego eksperymentu, tym bardziej, że analiza i interpretacja tak dużej ilości wyników na pewno nie była sprawą łatwą. Uzyskane wyniki pozwoliły w pełni potwierdzić przyjęte hipotezy badawcze i udowodniły, że odżywianie roślin pomidora zwyczajnego (*Lycopersicon esculentum* Mill.) krzemem i selenem prowadziło do łagodzenia skutków stresu solnego. Wykazano również przydatność oznaczanych cech fizjologicznych i biochemicznych do opisu stanu stresu w roślinach. Po dogłębnej analizie treści rozdziału Dyskusja stwierdzam ponadto, że uzyskane wyniki badań własnych zostały przez Doktoranta poddane bardzo wyczerpującej dyskusji z rezultatami uzyskanymi przez innych autorów, zawartej aż na 12 stronach dysertacji. Osiągnięte wyniki badań własnych pozwoliły Doktorantowi na wyciągnięcie i poprawne sformułowanie 13 wniosków, z których do najważniejszych zaliczam:

- Wpływ zastosowanych poziomów stężenia NaCl w hydroponikach na oznaczane cechy fizjologiczne i biochemiczne pomidora był zróżnicowany, zależny zarówno od natężenia stresu solnego, jak i czasu ekspozycji na działanie czynnika stresogennego.
- Uzyskane rezultaty niektórych badań fizjologicznych i biochemicznych wskazują na pozytywne efekty zastosowanego żywienia roślin selenem oraz krzemem, polegające na łagodzeniu skutków stresu solnego.
- Wykazano przydatność oznaczanych cech fizjologicznych i biochemicznych do opisu stanu stresu solnego u pomidora.

Odnosząc się zawartości rozprawy doktorskiej Pana mgr Piotra Ptaka należy stwierdzić, że bardzo trudno jest w tej pracy znaleźć jakieś słabe strony. Pomimo wszystkich walorów ocenianej dysertacji, z obowiązku recenzenta muszę zwrócić jednak uwagę na fakt, że Doktorant nie ustrzegł się pewnych niedociągnięć językowych i edytorskich, a niektóre z nich prezentuję poniżej:

Streszczenie – brak jednostek przy dawkach krzemu, ponadto jest „5H₂O”, winno być „5H₂O”,

str. 17 jest „okazów. roślin”, winno być „okazów roślin”,

str. 21 jest „mg · g⁻¹”, winno być „mg · g⁻¹”,

str. 23 jest „H₂O₂,”, winno być „H₂O₂,” ponadto brak jednostki, w której wyrażono aktywność peroksydazy,

str. 29 jest „Se 2”, winno być „Se2”,

str. 36 jest „wzrostem. (ryc. 11), winno być „wzrostem (ryc. 11)”,

str. 55 jest „p W”, winno być „W”,

str. 55 jest „kontrolą. (tab. 17)”, winno być „kontrolą (tab. 17),

str. 56 wzrost wartości z 30,28 do 112,54 nie wynosi 58% lecz jest to wzrost o około 272%,

str. 57 jest „selenu Rośliny”, winno być „selenu. Rośliny”,

str. 59 jest „pomiaru. (ryc. 30)”, winno być „pomiaru (ryc. 30)”,

str. 66 jest „liściach Wzrastające”, winno być „liściach. Wzrastające”,

str. 66 jest „terminie. pomidora”, winno być „terminie wzrostu pomidora”,

str. 80 jest „pomiaru. (ryc. 49)”, winno być „pomiaru (ryc. 49)”,

str. 90 wzrost wartości z 42,75 do 111,70 nie wynosi 49,5% lecz jest to wzrost o około 161%,

podwójne spacje: str. 12, 31, 32, 33, 55, 59, 63, 76, 82, 89, 90, 91, 97, 99, 100, 101, 102,

brak spacji: str. 12, 48,

brak przecinka: str. 13, 15, 40, 57

Powyższe uwagi nie wpływają jednak na całościową, bardzo pozytywną ocenę recenzowanej pracy doktorskiej. Podczas czytania dysertacji mgr Piotra Ptaka nasunęły mi się jednak dwie kwestie, które wymagają wyjaśnienia:

1. Dlaczego nie porównano wpływu oddziaływania krzemu i selenu (czynnik II) tylko do jednej wersji czynnika I (wpływ zasolenia NaCl)? Wykorzystanie dwóch wersji czynnika I niezależnie w doświadczeniu A i B, zagmatwało nieco ogólny pogląd na wpływ tych dwóch pierwiastków na łagodzenie stresu solnego i utrudniło porównanie wielkości takiego oddziaływania. Tylko bowiem na podstawie wyników prezentowanych na rycinie 2 i rycinie

30 widać wyraźnie różnice w oddziaływaniu samego zasolenia NaCl na zawartość chlorofilu a w liściach pomidora zwyczajnego.

2. Czym mógł być spowodowany tak duży wzrost wartości maksymalnej fotochemicznej wydajności PS II (F_v/F_M) prezentowany na rycinie 24 (str. 49) dla poziomu zasolenia Z1 w V terminie analizy? Czy to nie był przypadkiem tylko błąd pomiaru?

Wnioski końcowe

Reasumując stwierdzam, że nie mam żadnych wątpliwości, że rozprawa doktorska Pana mgr Piotra Ptaka pt.: „Reakcja fizjologiczna pomidora zwyczajnego (*Lycopersicon esculentum* Mill.) na podwyższone stężenie soli w warunkach zróżnicowanego żywienia krzemem i selenem” jest pracą nowatorską i stanowi samodzielne oraz oryginalne rozwiązanie prezentowanego w niej problemu naukowego. Koncepcja rozprawy, zastosowane metody badawcze, uzyskane wyniki i ich interpretacja pozwalają stwierdzić, że cel pracy został osiągnięty, a założone hipotezy potwierdzone.

W związku z powyższym, przedstawiona dysertacja spełnia ustawowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim – Ustawa z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, wnioskuję o dopuszczenie Pana mgr Piotra Ptaka do dalszych etapów procedury ubiegania się o stopień naukowy doktora.

Jednocześnie, z uwagi na wszystkie wskazane w niniejszej recenzji walory pracy, wnioskuję do Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej autorstwa mgr Piotra Ptaka.

prof. dr hab. Robert Biczak

