

Warszawa 13. 10. 2020 r.

prof. dr hab. Janina Gajc-Wolska  
Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych  
Instytut Nauk Ogrodniczych  
SGGW w Warszawie

## RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Korbas**

**pt. "Udział poliamin w reakcji ogórka (*Cucumis sativus* L.) na stres zasolenia"**

**Praca wykonana w Katedrze Fizjologii Roślin Wydziału Rolnictwa, Ogrodnictwa i**

**Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu**

**pod kierunkiem dr hab. Jana Kubisa (prof. UP w Poznaniu)**

Obecnie problem zasolenia gleb nabiera szczególnej wagi ze względu na stosowanie w rolnictwie wysokich dawek nawożenia oraz pogłębiającego się deficytu wody pitnej. Dlatego też ostatnio wzrasta zainteresowanie reakcją roślin na zasolenie, zarówno wśród praktyków – rolników, ogrodników jak i naukowców, interesujących się mechanizmami regulacji procesów fizjologicznych w różnych warunkach środowiska. Przy stosunkowo małym stopniu zasolenia, obniżającym potencjał wody w pożywce, nagromadzenie szkodliwych jonów jest niewielkie, w roślinach zmienia się jednak ilościowy stosunek jonów. Jest to stres jonowy w przeciwieństwie do stresu solnego, gdy zasolenie obniża drastycznie potencjał wodny roztworu glebowego lub pożywki. Przy jeszcze większym stresie następują zaburzenia w absorpcji wody - jest to tzw. stres osmotyczny. Wrażliwość roślin na zasolenie wiąże się między innymi z ich przystosowaniem do życia w określonych warunkach siedliska i tak np. grupa roślin zwanych halofitami znosi dosyć wysokie zasolenie podłoża. Rośliny przystosowane do wzrostu w warunkach małego stężenia soli w podłożu (tzw. glikofity) wykazują zaburzenia w przebiegu procesów życiowych, głównie wzrostu, przy niewielkim obniżeniu potencjału wodnego. Ich wrażliwość przy tym na zasolenie jest bardzo zróżnicowana. Rośliny odznaczają się różną odpornością na zasolenie środowiska. Zdecydowana większość roślin warzywnych wymaga do swego optymalnego rozwoju niezasolonego podłoża. Wówczas nie będą one miały ograniczonego pobierania wody przez system korzeniowy, a także będą mogły pobierać odpowiednie ilości składników pokarmowych, co zagwarantuje osiągnięcie spodziewanego plonu.

Biorąc pod uwagę duże znaczenie gospodarcze ogórka oraz niebezpieczeństwa jakie niesie ze sobą nadmierne zasolenie podłoża, przy ograniczonym dostępie w literaturze jednoznacznej odpowiedzi na reakcje fizjologiczne i biochemiczne wrażliwości ogórka na zasolenie, uważam, że podjęte w niniejszej pracy badania są uzasadnione. Wyniki badań zmierzające do określenia udziału poliamin w mechanizmie reagowania na stres zasolenia ogórka będą miały znaczenie dla ogrodniczej praktyki, a także nauki.

#### **Ocena formalna pracy**

Rozprawa doktorska Pani mgr Agaty Korbas liczy 169 stron maszynopisu i ma układ typowy dla prac eksperymentalnych. Składa się z dziewięciu rozdziałów z których Przegląd literatury, Materiał i metody, Omówienie wyników są podzielone na dodatkowe podrozdziały. Dokumentacja przeprowadzonych badań obejmuje: wykaz najważniejszych skrótów i symboli, 6 tabel i 86 rycin. Na bibliografię składają się 152 pozycje literatury głównie anglojęzycznej. Do pracy dołączono streszczenie w języku polskim i angielskim. Praca ma przemyślany układ, jest napisana przejrzysto w konsekwentnym porządku, dzięki czemu stanowi spójną całość. Szczegółowy i czytelny spis treści umożliwia łatwe poruszanie się w tekście.

#### **Ocena merytoryczna**

Podstawowym celem przedstawionej do recenzji rozprawy było wskazanie udziału poliamin w mechanizmie reagowania na stres zasolenia u ogórka gruntowego. Do oceny, prowadzonej w 5 latach badań wykorzystano wskaźniki anatomiczne, analizy biochemiczno-fizjologiczne, analizy chemiczne, oraz pomiary pożywki.

W pracy przedstawiono szczegółowo cel badawczy i szczegółowo pokazano podejmowanie problemów jednak nie postawiono wyraźnej hipotezy badawczej. **Proszę Doktorantkę o przedstawienie hipotezy badawczej recenzowanej dysertacji.**

W **Przeglądzie literatury** Doktorantka przedstawiła zgromadzoną wiedzę przywołując w tym rozdziale licznie zgromadzoną literaturę. Na początku omówione zostały poliaminy, tak zwane grupy regulatorów wzrostu pełniące kilka funkcji ochronnych w komórce przed działaniem stresu. Następnie przedstawiono mechanizmy odpowiedzialne za odporność roślin na zasolenie, a także znaczenie sodu i chloru dla roślin. Ostatni rozdział przeglądu literatury poświęcono ogórkowi, opisując kolejno morfologię rośliny, systematykę, biologię, wymagania klimatyczne i glebowe, oraz znaczenie gospodarcze tej rośliny w Polsce i na świecie. **W rozdziale tym zabrakło mi informacji dotyczących wrażliwości ogórka na stres zasolenia, co prawda literatura ta pojawiła się w rozdziale Dyskusja, jednak moim zdaniem dobrze by było również w tym miejscu przytoczyć kilku autorów zajmujących się stresem solnym u ogórka.**

W mojej opinii przedstawiony przegląd literatury jest dobrze poprowadzony, informacje tu zawarte są wystarczającym kompendium wiedzy do podjęcia zaplanowanych eksperymentów. Zakres tematyczny tego rozdziału jest ściśle związany z podjętymi badaniami i nakreśla obecny stan wiedzy.

Rozdział **Materiał i metody** Doktorantka podzieliła na 19 podrozdziałów. Wymieniła pięć odmian ogórka polowego, które weszły do pierwszego etapu badań, a następnie opisała przygotowanie materiału roślinnego do doświadczeń oraz podała badane kombinacje zróżnicowanych dawek NaCl. **Mając na uwadze fakt, że Doktorantka wskazuje problem zasolenia podłoży w uprawach pod osłonami chciałabym zapytać dlaczego przynajmniej jedna z odmian nie była odmianą ogórka szklarniowego. W pracy Doktorantka pisze, że: „kryterium doboru odmian do doświadczeń był termin owocowania oraz dostępność nasion na rynku” nie przekonuje mnie to i proszę o dodatkowe wyjaśnienie.**

Następnie przedstawiono schemat pozyskania materiału roślinnego oraz wskazano pomiary biochemiczno-fizjologiczne do badań pierwszego etapu.

W drugim etapie badań wytypowano dwie odmiany oraz modyfikowano poziom poliamin.

Następnie przedstawiono schemat pozyskania materiału roślinnego do badań drugiego etapu i wskazano pomiary biochemiczno-fizjologiczne.

W kolejnych podrozdziałach omówiono metodykę przeprowadzonych pomiarów i analiz.

W ramach pomiarów biochemiczno-fizjologicznych ustalono: względność zawartość wody w liściach, aktywność peroksydazy gwajakolowej, aktywność peroksydazy askorbinianowej, aktywność katalazy, aktywność dysmutazy nadtlenkowej, zawartość białka, poziom anionorodnika nadtlenkowego, poziom nadtlenu wodoru, świeżą i suchą masę roślin, zawartość wolnych poliamin. Oznaczono również przewodność elektryczną pożywki, zawartość jonów sodu i chloru, wykonano również zdjęcia struktury chloroplastów ogórka.

Biorąc pod uwagę ten rozdział dysertacji doktorskiej uważam, że Doktorantka poprawnie opisała materiał badawczy i metody, którymi się posługiwała. Tam gdzie jest to wymagane załączyła informacje o wielkości badanej próby i liczbie powtórzeń. Wykorzystane w pracy metody badawcze uważam za odpowiednie dla zrealizowania celu.

Rozdział **Wyniki** przedstawiono na 88 stronach jest utrzymany w tym samym porządku tematycznym jaki został zaprezentowany we wcześniejszych rozdziałach dysertacji. W pierwszym etapie badań przedstawiono na rycinach wyniki analiz statystycznych przeprowadzonych badań biochemiczno-fizjologicznych. Wykazano, że zależnie od stężenia soli pobrany do analiz materiał roślinny ogórka gruntowego wykazywał w różnym stopniu

defekty funkcji aparatu fotosyntetycznego, obniżenie stanu uwodnienia komórek roślinnych, świeżej i suchej masy liści i korzeni roślin.

Kolejne wyniki badań wskazały, że aktywność enzymów była zróżnicowana w zależności od intensywności stresu oraz czasu działania czynnika stresowego. Stwierdzono, że wyższe stężenie NaCl powoduje spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy askorbinianowej, a niższe stężenie NaCl wzrost ich aktywności. W dalszej prezentacji wyników pomiarów biochemiczno-fizjologicznych wykazano, że wzrastające zasolenie spowodowane wyższymi dawkami NaCl powodowało istotny wzrost katalazy, natomiast stres zasolenia miał niewielki wpływ na aktywność peroksydazy gwajakolowej. Odnotowano również istotnie wyższy poziom poliamin w pierwszych godzinach działania czynnika stresowego. Istotnie wzrastał poziom spermidyny, natomiast poziom putrescyny i sperminy był bardzo powolny. Prezentacja wyników drugiego etapu badań wskazuje, że stosowanie egzogennej poliaminy podczas stresu zasolenia stymulowało aktywność enzymów antyoksydacyjnych, podczas gdy u roślin poddanych tylko działaniu NaCl nie stwierdzono tak wysokiej aktywności. Wskazano, że egzogenna aplikacja spermidyny może podnieść poziom wolnych poliamin obserwowany w warunkach zasolenia.

Końcowe omówienie wyników dotyczy zmian ultrastrukturalnych w liściach ogórka.

Stwierdzono, że po zastosowaniu egzogennej spermidyny, a następnie potraktowanie roślin czynnikiem stresowym następowało złagodzenie skutków działania stresu wobec struktury chloroplastów.

Podsumowując, uważam, że wyniki zostały poddane wnikliwej analizie, przedstawiono i omówiono je bardzo szczegółowo. Proponowałabym rozważyć inny układ przedstawienia wyników bardziej syntetyczny, który pozwoliłby spojrzeć na uzyskane rezultaty badań w inny, bardziej ogólny, sposób z zamiarem pokazania ich pod kontem przygotowania do publikacji, czy też prezentacji podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Przedstawiona do recenzji praca jest bardzo obszerna i wielowątkowa, dlatego też Autorka nie uniknęła pewnych nieścisłości i błędów, które powinny być usunięte przy przygotowaniu publikacji do druku. O kilku z nich chciałabym wspomnieć

- na stronie 16, 22 rozdziału Przegląd literatury Doktorantka używa liczby mnogiej dla sformułowania 'wysokich poziomów', a powinna użyć liczby pojedynczej
- począwszy od str. 23 w rozdziale Przegląd literatury podano sformułowanie 'nasiona ogórków', zasadą jest to, że mówiąc czy pisząc o roślinie zawsze używamy liczby pojedynczej jedynie w stosunku do owoców używamy liczby mnogiej. Ten błąd w pracy powtarza się kilka razy.

- w wielu miejscach w pracy Doktorantka pisząc nazwę odmiany np. Śremski F1 powinna użyć 'Indeks dolny' dla cyfry 1 (Śremski F<sub>1</sub>) i poprawnie napisać nazwy wszystkich odmian ogórka, które wymieniała w pracy.

Bardzo szczegółowo został przedstawiony kolejny rozdział w pracy **Dyskusja**. Autorka omówiła w nim swoje osiągnięcia w nawiązaniu do najnowszej literatury światowej dotyczącej tej tematyki. Sposób interpretacji własnych wyników świadczy o dobrej znajomości zagadnień omawianych w tym rozdziale. Podjęta została również próba wyjaśnienia wielu ważnych zagadnień zarówno poznawczych jak i praktycznych w oparciu o bogaty zasób wiedzy Doktorantki.

Na podstawie uzyskanych wyników Autorka przedstawiła 12 wniosków są one zwięzłe logiczne i znajdują potwierdzenie w uzyskanych wynikach.

Praca jest napisana w sposób jasny, przystępny i zawiera niewiele usterek redakcyjnych

Za najważniejsze nowatorskie osiągnięcia przedstawionej rozprawy można uznać

- czas pobierania prób do analiz obrazujący szybkie działanie egzogennej spermidyny po kilku godzinach stresu

- użycie elektronowej mikroskopii (TEM) pozwalającej obrazowo przedstawić problematykę przeprowadzonych badań

### **Podsumowanie**

Reasumując uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. "Udział poliamin w reakcji ogórka (*Cucumis sativus* L.) na stres zasolenia" jest opracowaniem wartościowym i oryginalnym, którego przygotowanie wymagało od Autorki dużego wysiłku badawczego. Mam też nadzieję, że przedstawione w recenzji uwagi zostaną przez Doktorantkę właściwie odebrane, a wskazane niedociągnięcia zostaną wyeliminowane z pracy, jak również zostaną uwzględnione przy przygotowaniu ewentualnych publikacji.

Dlatego biorąc pod uwagę ważność problemu badawczego, któremu jest poświęcona oceniana rozprawa, oryginalną koncepcję przedstawionych badań, przeprowadzone poprawnie doświadczenia, wymagające opanowania nowoczesnych metod badawczych i uzyskanie oryginalnych wyników wskazujących na potwierdzenie stawianych celów zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie mgr inż. Agaty Korbas do dalszych etapów przewodu doktorskiego.