

Prof. dr hab. Alicja Pecio
Zakład Żywienia Roślin i Nawożenia
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8
24-100 Puławy

Puławy, 14.12.2016 r.

Ocena

rozprawy doktorskiej **mgr Małgorzaty Łukowskiej** pt.: „Zmiany właściwości powierzchniowych korzeni i liści jęczmienia w warunkach niskiej dostępności wody” opracowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Grzegorza Józefaciuka – promotora rozprawy oraz dr Jolanty Cieśli – promotora pomocniczego

Wprowadzenie do recenzji

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Łukowskiej jest bardzo obszerna i obejmuje 138 stron zwartego, sformatowanego i oprawionego wydruku komputerowego. Przyjęty przez doktorantkę układ pracy jest prawidłowy, a kolejność rozdziałów zgodna ze standardami obowiązującymi w tego rodzaju opracowaniach. Wyniki przedstawiono w sposób bardzo szczegółowy i poprawny w 40 tabelach i na 52 rysunkach, cytowano 212 pozycji literatury, w tym 174 (82%) anglojęzyczne. Praca wpisuje się w bardzo aktualne, ale szerokie zagadnienie badania mechanizmów i skutków stresu suszy u roślin uprawnych. Z szerokiego spektrum wskaźników reakcji roślin na stres suszy autorka wybrała wskaźniki biometryczne i chemiczne oraz przede wszystkim, co stanowi o zasadniczej wartości pracy, rzadko spotykane w piśmiennictwie wskaźniki fizykochemiczne. Cennym i nowatorskim podejściem do tematu jest określanie skutków stresu we wczesnej fazie rozwojowej roślin jęczmienia, którą będę dalej w uproszczeniu określała jako stadium siewki. Cenne i nowatorskie jest także równoczesne określanie wartości wybranych wskaźników liści i korzeni sześciu odmian jęczmienia, wstępnie rozpoznanych pod względem reakcji na stres suszy.

Tytuł i cel pracy

Z uwagi na przedmiot i zakres pracy, bardziej odpowiedni wydawałby się jej tytuł „Zmiany właściwości powierzchniowych korzeni i liści siewek odmian jęczmienia pod wpływem stresu suszy”.

W **rozdziale 3.** „Cel i zakres pracy” autorka formułuje cel pracy i wymienia etapy jego realizacji. Cel pracy sformułowano jasno i poprawnie, natomiast określenie „etapy” jest w moim rozumieniu niewłaściwe, gdyż sugeruje konsekwentny postęp badań, w którym jeden etap następuje i wynika z poprzedniego. W przypadku recenzowanej pracy etapy te dotyczą w rzeczywistości uporządkowanych w grupy wskaźników stresu suszy.

Nie sprecyzowano niestety hipotezy lub hipotez badawczych, które nie są przecież tożsame z celami pracy. Po wnikliwej lekturze pracy i uwzględniając sformułowany we wstępie wniosek doszłam do wniosku, że u podstaw badań musiała leżeć jasna hipoteza, ale autorka nie zdołała jej wyartykułować. Ponieważ recenzowanie pracy bez ciągłego

nawiązywania do hipotezy i jej weryfikacji jest niemożliwe pozwoliłam sobie zaproponować dwie robocze hipotezy w następującym brzmieniu:

Hipoteza 1: Cechy fizykochemiczne liści i korzeni siewek jęczmienia mogą posłużyć do porównawczej oceny odporności odmian tej rośliny na stres suszy.

Hipoteza 2: Badania nad wpływem wczesnego stresu suszy na siewki roślin jęczmienia można prowadzić zarówno w kulturach glebowych jak i wodnych.

Uprzejmie proszę doktorantkę o opinię w sprawie tytułu i hipotezy pracy.

W dalszym ciągu recenzji przedstawię szczegółową ocenę pracy w układzie jej rozdziałów, wyłuszczać, jak wyżej, elementy wymagające ustosunkowania się doktorantki w toku obrony pracy. Uwagi o charakterze porządkowym i semantycznym umieściłam w aneksie do recenzji w nadziei, że autorka uwzględni je w trakcie przygotowywania pracy do druku. Uwag tych nie będę odczytywać, żeby oszczędzić czas osób zgromadzonych na obronie.

Rozdział 2. Przegląd literatury

Cel pracy został wygenerowany na podstawie ciekawego i umiejętnie przeprowadzonego przeglądu literatury, zawierającego: wprowadzenie do tematyki występowania i znaczenia skutków suszy w warunkach Polski, uzasadnienie wyboru jęczmienia jako rośliny testowej oraz opis morfologicznych, anatomicznych, fizjologicznych i biochemicznych reakcji roślin na stres suszy. Doktorantka słusznie zauważyła, że pierwszym organem reagującym na deficyt wody jest korzeń i jego reakcja pociąga za sobą kolejne procesy zachodzące w pozostałych częściach rośliny. Dlatego też zwróciła szczególną uwagę na stan wiedzy w zakresie zmian właściwości powierzchniowych korzeni i liści wywoływanych czynnikami stresowymi. O ile zagadnienia suszy w Polsce mogłyby zostać pominięte, gdyż świadczą głównie o ogólnej wiedzy doktorantki, o tyle bardzo pozytywnie oceniam rozdziały 2.2 „Fizjologiczne i anatomiczne reakcje roślin na stres suszy” oraz 2.3 „Zmiany właściwości powierzchniowych korzeni i liści wywołane czynnikami stresowymi”, które są bezpośrednio związane z tematyką pracy.

Rozdziały 4 i 5. Materiał i metodyka badań

Aby osiągnąć założony cel badań doktorantka wykonała wiele badań empirycznych w celu wyznaczenia szeregu parametrów biologicznych i fizykochemicznych tkanek roślinnych. Realizacja tych badań wymagała wykorzystania nowoczesnej precyzyjnej aparatury pomiarowej oraz dużej wiedzy niezbędnej do ich obsługi oraz właściwej interpretacji uzyskanych wyników. Bogaty i dobrze przemyślany zestaw wskaźników umożliwił doktorantce osiągnięcie założonego celu badań i zdecydował o dużej wartości merytorycznej pracy. Nadaje to pracy charakter metodyczny i dlatego do tych rozdziałów ustosunkowałam się dosyć szczegółowo.

Materiał badawczy stanowiło sześć dwurzędowych odmian jęczmienia jarego, pochodzących z różnych stref klimatycznych, co warunkowało ich zróżnicowaną wrażliwość na niedobór wody. Były to dwie odmiany syryjskie Harmal i CamB1, uznawane za tolerancyjne, brytyjska odmiana Georgie i niemiecka Maresi, charakteryzowane jako wrażliwe oraz dwie polskie odmiany Sebastian i Stratus o średniej odporności na stres suszy.

Rozpoznanie odmian autorka dokonała na podstawie badań prowadzonych w latach 2011-2015 w ramach projektu POLAPGEN-BD, w którym była dobrze zorientowana, a recenzentka była jednym z wykonawców.

Szczegółowo opisano kontrolowane warunki prowadzenia doświadczenia w kulturach glebowych i kulturach wodnych. W obu z nich czynnikiem była dostępność wody dla roślin. Stres suszy wprowadzano na 10 dni, po ok. 3 tygodniach od wykiełkowania nasion jęczmienia, tj. w fazie trzech w pełni wykształconych liści. W doświadczeniu glebowym warunki stresowe uzyskiwano przez doprowadzenie siły ssącej gleby do wartości $pF=3,5$, co odpowiadało słabej dostępności wody. W warunkach kultur wodnych dostępność wody dla roślin regulowano przez dodatek mannitolu w trzech wzrastających stężeniach. Środkowe stężenie roztworu mannitolu, tj. $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ odpowiadało potencjałowi wody $\psi=-1,3 \text{ MPa}$, czyli w przybliżeniu wartości $pF=3,5$. W ten sposób obydwie metody mogły być porównywane. Chciałam jednak podkreślić, że o ile w kulturze wodnej działanie stresu było natychmiastowe, o tyle w warunkach glebowych ustalało się przez dłuższy okres czasu, co przedstawiono na rysunku 2.

Szczegółowa metodyka została opisana w sposób wyczerpujący i przystępny, nawet dla mnie, nie będącej specjalistą w tym zakresie. Ten szczegółowy opis jest potwierdzeniem dużej wiedzy doktorantki w zakresie metod badawczych oraz teoretycznych podstaw wyznaczania wskaźników. Zawiera jednak pewne niedociągnięcia. Na str. 24 w „Opisie metod adsorpcji – desorpcji pary wodnej w badaniach korzeni” nie podano stopnia rozdrobnienia materiału roślinnego, a przecież według mnie absorpcja pary wodnej zależy od średnicy cząstek materiału. W tym miejscu proszę autorkę o **ustosunkowanie się do pojęć adsorpcja i absorpcja w kontekście wyników swych badań.**

W stosunku do wegetacyjnej i analitycznej części badań mam zastrzeżenia co do liczby powtórzeń. Chodzi o liczbę wazonów, liczbę roślin w wazonie, liczbę próbek pobieranych z wazonów, liczbę powtórzeń analitycznych. To wszystko nie jest jasne, a powinno być wyraźnie określone. Na str. 33 trzeba rozróżnić powtórzenia wegetacyjne (liczba wazonów lub serie doświadczenia) i powtórzenia analityczne (z tej samej próbki), czyli jaka była liczebność oznaczeń danej cechy. Dla przykładu, z Rysunku. 3, który w zasadzie jest zbędny, gdyż nie wnosi żadnych nowych informacji w porównaniu z jasnym opisem, wynika, że doświadczenia prowadzono w jednym powtórzeniu, być może w 3 seriach, ale na stronie 34 w Tabeli 1 podano wartości średnie z pięciu powtórzeń. **Proszę autorkę o generalne ustosunkowanie się do zagadnienia liczby powtórzeń i sposobu pobierania próbek w doświadczeniach wegetacyjnych uzupełnionych badaniami analitycznymi.**

Analiza statystyczna, którą przeprowadzono w programie STATISTICA, polegała w zasadzie tylko na analizie wariancji (ANOVA), jedno- lub wieloczynnikowej, zależnie od analizowanych danych. Istotność różnic oceniano na podstawie testu post-hoc Tukey'a. Przejrzysty sposób prezentacji bogatego zbioru wyników, poparty dokumentacją w odpowiednich tabelach i na wykresach, świadczy o umiejętności interpretacji danych empirycznych przez Doktorantkę, jak również posługiwania się podstawową analizą statystyczną w nowoczesnym programie komputerowym. W tym zakresie odczuwam jednak pewien niedosyt. W tabelach wynikowych nie podano średniej generalnej dla badanych wskaźników, a ponadto nie podjęto próby zastosowania innych metod statystycznych np.

analizy czynnikowej, która umożliwiłaby wydzielenie jednorodnych grup wskaźników wrażliwości roślin na stres suszy.

Rozdział 6. Wyniki badań

W **podrozdziałach 6.1 „Parametry biometryczne roślin” i 6.2 „Poziom stresu roślin”** udokumentowano bardzo starannie wyniki dotyczące cech biometrycznych roślin, tj. wysokość, długość i średnica korzeni, masa korzeni i części nadziemnej rośliny oraz zawartość proliny, względna zawartość wody w roślinie i opór dyfuzyjny aparatów szparkowych. Szczególnie cenne jest badanie oporu dyfuzyjnego aparatów szparkowych dlatego że: 1) opór ten zwiększał się bardzo silnie pod wpływem stresu, 2) stwierdzono wyraźne różnice pomiędzy odmianami i 3) jest to jedyna z cech biometrycznych badana przyżyciowo (aparatem AP-4 Delta T Devices). Pozytywnie oceniam również oznaczanie zawartości wody w roślinie z uwzględnieniem tzw. jędrnej masy (TW) rośliny, uzyskiwanej po przetrzymaniu świeżych liści w wodzie. Interesujące jest również zagadnienie proliny, której zawartość ulega największym względnym zmianom pod wpływem stresu w grupie wszystkich omawianych w tej grupie wskaźników. Za usterki uważam wyłącznie opisowy (analityczny) charakter przedstawienia wyników, bez próby dokonania w tym miejscu ich podsumowania pod kątem przygotowania do weryfikacji zaproponowanych hipotez, a więc określenia przydatności poszczególnych parametrów do oceny skutków stresu suszy, oceny odporności badanych odmian na stres i różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi w doświadczeniach glebowych i na pożywce wodnej z mannitolem. **W tej części proszę o ustosunkowanie się autorki do zagadnienia możliwości wyznaczenia całkowitej powierzchni systemu korzeniowego roślin posługując się skanerem Epson Perfection V 700 Photo Secko Corporation.**

W **podrozdziale 6.3 „Właściwości powierzchniowe korzeni”** na podstawie wyznaczonych doświadczalnie izoterm adsorpcji – desorpcji pary wodnej przez zmielone próbki liści i korzeni jęczmienia obliczono szereg wynikających z nich parametrów fizykochemicznych, posługując się modelem BET. Wyniki zamieszczono na 8 rysunkach i w 12 tabelach, które bardzo szczegółowo, w sposób opisowy omówiono, zamieszczając często w tekście wyniki z rysunków i tabel. W tej części pracy nie przeprowadzono poważniejszej próby dyskusji wyników z danymi piśmiennictwa. Nie dokonano również żadnej próby podsumowania tej części pracy w świetle zaproponowanych hipotez badań. Oceny tej części pracy należałoby dokonać od strony fizykochemicznej, a nie biologicznej (rolniczej) i z uwagi na swoją specjalność nie mogę tego miarodajnie dokonać. Muszę zatem zapytać autorkę, **czy opisane metody są w pełni adekwatne do materiału roślinnego zwłaszcza, że norma (Polska Norma PN-Z-19010-1, wg której wykonano oznaczenia dotyczy materiału glebowego.** Nie mogę się ponadto wyzbyć wątpliwości **czy wyniki oznaczeń nie zależą od stopnia rozdrobnienia korzeni jęczmienia oraz czy wykluczony jest wpływ mannitolu na adsorpcję pary wodnej i tym samym przebieg izoterm adsorpcji.** Z przedstawionych danych wynika również, że wpływ zarówno stresu suszy, jak i odmiany na omawiane parametry fizykochemiczne korzeni jest w większości przypadków bardzo niewielki i można

tu mówić zaledwie o tendencjach. Autorka wykazała się dużą znajomością fizykochemii, jednakże mam wątpliwości czy przyczyniło się to do wyjaśnienia hipotez tej właśnie pracy.

W podrozdziale 6.4 „Charakterystyka właściwości jonowymiennych korzeni” przedstawiono wyniki badań nad ładunkiem powierzchniowym zmielonych próbek korzeni, wyznaczonym metodą miareczkowania potencjometrycznego. Zastrzegając ponownie swoje ograniczone kompetencje w zakresie badań fizykochemicznych materiałów roślinnych uznaję, że jest to logiczna kontynuacja badań opisanych w poprzednim rozdziale. Przedstawione w tym rozdziale wyniki, w większym stopniu niż w rozdziale poprzednim, przyczyniają się do weryfikacji hipotez badań. Parametry wyliczone z krzywej potencjometrycznego miareczkowania są silniej zróżnicowane pomiędzy badanymi odmianami oraz większy wpływ wywiera na nie wprowadzony stres suszy. Dotyczy to przede wszystkim doświadczenia prowadzonego w kulturze wodnej, która to metoda wydaje się tym samym bardziej odpowiednia do badań właściwości fizykochemicznych korzeni od metody wazonowej z glebą. W recenzowanym rozdziale znacznie ciekawsza i obszerniejsza jest również dyskusja uzyskanych wyników z danymi piśmiennictwa. Tym niemniej i tutaj brakuje podsumowania grupującego wszystkie oznaczone parametry w jedną spójną całość.

W podrozdziale 6.5 „Zwilżalność i swobodna energia powierzchniowa liści” na podstawie pomiarów kąta zwilżania powierzchni liścia (metoda „siedzącej kropli” z wykorzystaniem goniometru DSA 100 firmy) obliczono swobodną energię powierzchniową oraz jej składowe: polarną i dyspersyjną. Na początku tego rozdziału zamieszczono interesujące i oparte o dane piśmiennictwa rozważania nad właściwościami kutikuli, decydującymi o zwilżalności powierzchni liścia. Można to potraktować jako dyskusję wyników, ale równie dobrze można by te rozważania przenieść do części literaturowej pracy. Stwierdzono istotne zróżnicowanie wartości kąta zwilżania liści i wyliczonych z niego wartości pomiędzy odmianami jęczmienia oraz pomiędzy obiektem kontrolnym i stresowanym. Zarówno uszeregowanie odmian pod względem tych wartości w obiekcie kontrolnym, jak i ich reakcji na stres suszy było jednak dosyć przypadkowe i nie zawsze zgodne ze stwierdzonymi w poprzednich rozdziałach różnicami ich odporności na stres suszy. W każdym razie właściwości powierzchniowe liści są dobrym wskaźnikiem reakcji siewek roślin jęczmienia (bez wyróżniania odmian) na stres suszy. Rozdział ten jest bardzo rozbudowany i dostarcza cennych informacji dla osób zajmujących się badaniami powierzchni liścia pod kątem odporności roślin na stres suszy.

W podrozdziale 6.6 „Charakterystyka wosków powierzchniowych” autorka przedstawiła widma powierzchni liścia, które wykonała w podczerwieni (przyżyciowo) za pomocą aparatu FT-IR firmy Nicolet 6700 oraz określiła zawartość wosków i ich skład chemiczny metodami chromatograficznymi (w próbkach liofilizatów z liści). Metodyka analizy omówiona jest w sposób szczegółowy, ale nie podano w jaki sposób dokonano wydzielenia wosku z powierzchni liści. Wyniki analizy FTIR, podobnie jak poprzednio wyniki analiz właściwości powierzchniowych i jonowymiennych korzeni, zinterpretowano bardzo obszernie podając liczby falowe, przy których następuje wzbudzenie określonych grup związków wchodzących w skład wosków. Dokładność tego omówienia, wykraczająca poza

potrzeby wynikające z przedmiotu pracy, może być cenna dla osób zajmujących się analizą powierzchni w podczerwieni. Ilość wydzielanego przez liście roślin wosku znacznie i istotnie zwiększała się w wyniku stresu suszy. Autorka stwierdziła również duże różnice w reakcji odmian pod względem ilości wydzielanego wosku, ale uszeregowanie odmian było inne w doświadczeniu przeprowadzonym w glebie i przeprowadzonym w kulturze wodnej. Autorka określiła skład wosku oznaczając w nim metodą chromatograficzną zawartość aldehydów i kwasów tłuszczowych. Napotkałam tutaj na poważną niekonsekwencję metodyczną. Na stronach 102 i 110 autorka pisze o „składnikach wosku roślinnego”, podczas gdy z metodyki wynika, że analizom poddawano „substancje wyekstrahowane ze zliofilizowanych liści”.

Proszę o wyjaśnienie jak ekstrahowano woski i czy analizowano woski czy całe liście.

Wyniki przedstawione przez autorkę w tym podrozdziale nie przemawiają jednoznacznie za weryfikacją zaproponowanych hipotez pracy. Pod tym względem wyniki są rozbieżne zarówno dla analizowanych grup wskaźników, jak i metod prowadzenia doświadczeń wegetacyjnych. Ponadto, wyniki omawiane w tym podrozdziale uporządkowano według metody prowadzenia doświadczeń wegetacyjnych (kultury glebowe i wodne), a nie według grup analizowanych parametrów. Utrudniło mi to bardzo dokonanie szczegółowej analizy tego podrozdziału pracy. Szkoda zatem, że autorka nie dokonała sama podsumowania tego rozdziału, mającego charakter opisowy i pozostawiła ten trud czytelnikom. Abstrahując od tych wątpliwości, muszę podkreślić ogrom pracy włożony w ekstrakcje i oznaczanie substancji wchodzących w skład wosków i dokumentowanie uzyskanych wyników w formie licznych tabel i rysunków.

Rozdział 7. Podsumowanie

W rozdziale tym doktorantka dokonała podsumowania wyników pracy. Jest to bardzo potrzebne wobec opisowego i bardzo szczegółowego przedstawiania wyników w poprzednich rozdziałach. Autorka starała się tu zrelatywizować, to znaczy doprowadzić do wspólnej miary bardzo różne parametry oceny wpływu stresu suszy na odmiany jęczmienia. Sprowadza się to do weryfikacji dwóch hipotez, które pozwoliłam sobie, jak mam nadzieję, zgodnie z intencjami autorki, zaproponować na wstępie recenzji. Jako wspólną miarę autorka przyjęła względne zmiany wartości danego parametru, rozumiane jako iloraz jego wartości zmierzonej w warunkach stresowych i w obiekcie kontrolnym. Jest to podejście w pełni prawidłowe, ale przydałoby się również zrelatywizowanie wartości parametrów pod kątem oceny odmian rosnących w warunkach dobrego zaopatrzenia w wodę (w stosunku do odmiany przyjętej za „standardową”). Szkoda jednak, że przeważająca część tego rozdziału ma wyłącznie charakter opisowy i w gruncie rzeczy powtarza (w ujęciu wartości względnych) prawidłowości już opisane w poprzednich rozdziałach. Ograniczenie się do mało czytelnych rysunków, zwłaszcza w części dotyczącej doświadczenia w kulturach glebowych, utrudnia odbiór przekazu i powoduje, że czytelnik, który chce wyciągnąć własne wnioski jest bezradny. Znacznie lepsze byłoby zamieszczenie tych danych w tabeli, ograniczając się przy tym w doświadczeniu w kulturze wodnej do stężenia $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$, odpowiadającego w przybliżeniu sile ssącej gleby pF 3,5 w doświadczeniu glebowym. Na podstawie takiej tabeli można by dokonać weryfikacji obydwu hipotez badawczych. Nie umożliwia tego obecna tabela 40, w której przedstawiono jedynie kierunkowe trendy zmian badanych parametrów korzeni i liści odmian jęczmienia pod wpływem stresu suszy. Opis zróżnicowania reakcji

odmian na stres suszy przedstawiony przez autorkę na zakończenie tego rozdziału trzeba przyjąć na wiarę, a do zagadnienia różnic wartości parametrów wyznaczonych w kulturach glebowej i wodnej autorka w tym rozdziale nie zajęła wyraźnego stanowiska. Decydując się na rozdział Podsumowanie autorka powinna przenieść do niego rozproszone w poprzednich rozdziałach elementy, a właściwie cytaty z danych piśmiennictwa i przedstawić pełną dyskusję wyników.

Rozdział 8. Wnioski

Przedstawione wnioski są zbyt rozbudowane, nie mają charakteru kategorycznego, czego oczekuje się po dobrze przeprowadzonych badaniach i nie weryfikują jednoznacznie hipotezy pracy. Pozwoliłam sobie w związku z tym zaproponować zmniejszenie liczby i inną redakcję wniosków. **Proszę autorkę o ustosunkowanie się do tej propozycji:**

1. Badania skutków stresów suszy na siewkach jęczmienia mogą posłużyć do przewidywania odporności na stres odmian tej rośliny w całym okresie wegetacji.
2. Badania na siewkach mogą być przeprowadzone zarówno w kulturach glebowych, jak i wodnych z dodatkiem mannitolu.
3. Badane parametry można uszeregować następująco pod względem ich przydatności do oceny stresu suszy u młodych siewek jęczmienia: Tu autorka powinna dokonać takiego uszeregowania, podobnie jak we wniosku 4.
4. Badane odmiany jęczmienia można uszeregować w kolejności malejącej pod względem ich odporności na stres suszy: Harmal > CamB1 > Sebastian > Stratus > Georgie > Maresi.

Uwagi końcowe

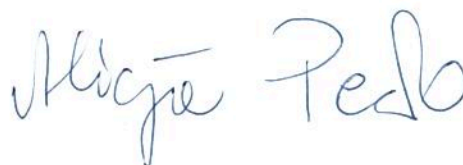
Praca jest bardzo ciekawa i inspirująca, a jednocześnie zawiera ogromną ilość materiału dowodowego. Skłoniło to mnie do podjęcia w recenzji pewnego rodzaju dyskusji z autorką i liczę na kontynuację tej dyskusji w trakcie obrony pracy. Praca zasługuje na publikację w liczącym się czasopiśmie naukowym i pod tym kątem formułowałam swoje uwagi, w tym również krytyczne. Jako elementy nowatorskie można wymienić: podjęcie próby oceny odporności odmian jęczmienia na stres suszy w bardzo wczesnych stadiach rozwojowych, prowadzenie badań równocześnie w kulturach glebowych i wodnych, zastosowanie do badań odporności roślin na stres suszy złożonych metod fizykochemicznych i biometrycznych oraz uwzględnienie w badaniach zarówno korzeni, jak i liści siewek jęczmienia. Autorka wykazała imponującą znajomość podstaw teoretycznych wyznaczania przyjętych parametrów oceny skutków stresu, przede wszystkim właściwości powierzchniowych materiałów biologicznych, to znaczy korzeni i liści, jak również posługiwania się aparaturą i aparatem matematycznym do wyznaczania wartości tych parametrów. Wykazała równie bardzo dobrą znajomość literatury przedmiotu i umiejętność gromadzenia pozycji piśmiennictwa. Doświadczenia wegetacyjne i oznaczenia laboratoryjne zostały wykonane z dużą starannością i dokładnością, a wyniki opisano i udokumentowano drobiazgowo w postaci tabel i rysunków. Autorka zweryfikowała pozytywnie dwie zasadnicze hipotezy mimo, że nie zdołała ich wyartykułować we wstępie pracy. Dzięki temu ta w zasadzie naukowo-metodyczna praca może mieć duże implikacje praktyczne w ocenie materiałów hodowlanych pod kątem odporności roślin jęczmienia, a może i innych roślin zbożowych na stres suszy.

W związku z powyższym stwierdzam, że mimo uwag krytycznych, które w dużej części formułowałam pod kątem przyszłej publikacji, praca prezentuje bardzo wysoki poziom naukowy i merytoryczny.

Rozprawa spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U RP Nr 65 poz. 595 z dnia 16 kwietnia 2003 r. z późniejszymi zmianami).

Wnioskuje zatem do Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN w Lublinie o **przyjęcie rozprawy i dopuszczenie jej autorki mgr Małgorzaty Łukowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony.**

Puławy, 14 grudnia 2016 r.

A handwritten signature in blue ink, reading "Alicja Fedo". The signature is written in a cursive, flowing style.

Aneks

Uważna lektura pracy nasunęła mi pewne wątpliwości redakcyjne, nad którymi należy się zastanowić w trakcie przygotowywania pracy do publikacji. Nie wymagam od autorki ustosunkowania się do nich w toku obrony pracy.

1. W tytule pracy uwzględniono określenie „w warunkach niskiej dostępności wody”. Wydaje się, że to bezpośrednie przeniesienie z języka angielskiego „*low water availability*” nie jest prawidłowe w języku polskim. Powinno być raczej „słaba dostępność wody”, pomimo że dalej w podrozdziale 4.1 dostępność ta jest charakteryzowana „niską” wilgotnością wagową gleby w doświadczeniu wazonowym lub „niskim” potencjałem wody (ψ) w doświadczeniu hydroponicznym. Podobny błąd klasyfikowania wartości wskaźników jako wysokie lub niskie doktorantka powtarza w zasadzie w całej pracy. Np. na str. 8 znajdujemy „poziom otwarcia aparatów szparkowych”, na str. 49 „wysokie” zamiast „silne uwodnienie komórek”, stężenie mannitolu było na ogół „wyższe” lub „niższe” zamiast odpowiednio „większe” czy „mniejsze”. Stres osmotyczny na str. 88 określono jako „najwyższy”, a na str. 108 odnotowano „najwyższą różnicę”, chyba jednak stres ten był „najsilniejszy”, a różnica „największa”. Na str. 12 stwierdzono „wyższą wrażliwość”, a na str. 76 „niższą odporność”. Wydaje się, że wrażliwość czy odporność może być „większa” lub „mniejsza”.
2. Stosowanie niewłaściwego określenia „najwyższe wartości” skutkuje zwykle logicznym, ale również niewłaściwym ich „obniżaniem” lub „spadkiem”. Jednakże prawidłowo zastosowane „największe wartości” mogą być logicznie „zmniejszane”. Doktorantka nie uniknęła błędu i konsekwentnie redukcje „wysokich” wartości określa jako „spadek”, np. na str. 5 „przepływy w rzekach spadają poniżej przepływu średniego” zamiast „zmniejszają się”, na str. 6 jest „spadek wielkości plonu”, na str. 8 „spadek poboru fosforu”, „obniżenie ruchliwości jonów” zamiast po prostu „zmniejszenie”, czy „spadek transpiracji” zamiast jej „ograniczenie”, „obniżenie ilości regulatorów wzrostu” czy w ogóle „obniżenie wartości parametrów” zamiast „zmniejszenie”. Na str. 9 zastosowano określenie „wzrost możliwości (tu brakujące słowo, chyba „wystąpienia”) interakcji” zamiast „zwiększenie możliwości”; a na str. 89 „obniżenie wartości kąta” zamiast po prostu „zmniejszenie kąta”.
3. Tytuły rozdziałów wyszczególnionych w Spisie treści nie zawsze są zgodne z tytułami w tekście pracy. Należy je zatem ujednolicić. Jeżeli tytuł podrozdziału 5.3 w Metodocy określono jako „właściwości adsorpcyjne korzeni” to warto również takie samo określenie stosować w pozostałych tytułach, np. w tytule odpowiedniego podrozdziału Omówienia wyników i dyskusji, gdzie użyto określenia „Właściwości powierzchniowe korzeni”. Podobnie tytuł podrozdziału 6.5.1. w Spisie treści zaczyna się od słów „wpływ stresu suszy glebowej”, a w tekście pracy na str. 88 od „wpływ stresu suszy w doświadczeniu glebowym”, przy czym w innych miejscach używano określenia „doświadczenie wazonowe”. Tytuł podrozdziału 6.4 zupełnie niepotrzebnie rozwinięto o określenie „badanych odmian jęczmienia”, gdyż wszystkie badania dotyczą odmian, a w tytułach innych rozdziałów tego uzupełnienia nie stosowano. Poza tym tytuł ten w Spisie treści zawiera błąd redakcyjny. Tytuł podrozdziału 6.6: jeżeli w Spisie treści jest „Charakterystyka powierzchniowych wosków roślinnych”, to w treści pracy nie powinno

być skrótu w formie „Charakterystyka wosków powierzchniowych”. Nie jest to duży błąd, ale jest wyrazem braku konsekwencji. Odwrotnie, tytuł podrozdziału 6.6.1. tylko w treści pracy, a nie w jej spisie, uzupełniono o wyjaśnienie, że chodzi o woski roślinne „liści jęczmienia”, przy czym w innych tytułach, z wyjątkiem podrozdziałów 6.6.1.1 i 6.6.2.1., nazwy rośliny testowej słusznie nie uwzględniano, gdyż cała praca dotyczy wyłącznie jęczmienia.

4. Doktorantka na ogół nie przywiązuje wagi do znaczenia zdań wprowadzających w tekście z ich rozwinięciem, np. w podrozdziale 2.2 na stronie 9, autorka wylicza „procesy morfologiczne, biochemiczne i fizjologiczne”, które dalej omawia w kolejności innej: morfologiczne, fizjologiczne, biochemiczne. Na str. 8, zgodnie z informacją autorki, że „pierwszym organem reagującym na deficyt wody jest korzeń”, pierwszym efektem działania suszy jest raczej „wzmożenie pobierania wody przez system korzeniowy”, a „dopiero potem zmniejszenie transpiracji”, a nie odwrotnie, jak podano w tekście. Nie są to oczywiście błędy merytoryczne, ale konsekwentne przestrzeganie ustalonej kolejności zwiększa przejrzystość i ułatwia czytelnikowi przyswajanie tekstu. Podobnie w rozdziale Podsumowanie, doktorantka wymienia parametry przedstawione na rysunku 47 w innej kolejności niż są w rzeczywistości, a ponadto jednego z wykresów, dotyczącego średnicy korzeni nie zamieszczono w ogóle. Autorka sugeruje, że świeża i sucha masa dotyczy korzeni, a dopiero z podpisu pod rysunkiem, nawet nie z tytułu osi Y wynika, że sucha masa dotyczy tylko korzeni, a świeża masa całej rośliny.
5. Spośród zagadnień metodycznych wymienić należy brak informacji o latach (roku) prowadzenia badań. Ponadto w opisach badanych parametrów, gdzie podaje się skrót od nazwy angielskiej, warto podać jego angielskie rozwinięcie. Np. skrót RWC w języku polskim oznacza „Względną Zawartość Wody”, która nijak się ma do załączonego skrótu. Rozwinięcie, jak się domyślam, *Relative Water Content* jest, w moim rozumieniu, dobrym wyjaśnieniem.
6. W podrozdziale 4.1 „Badane odmiany jęczmienia i warunki wzrostu roślin” doktorantka krótko charakteryzuje uwzględnione w badaniach odmiany zwracając uwagę na ich tolerancję na stres suszy. Nie podaje jednak źródła takiej informacji, która jest w tekście niejednokrotnie powtarzana. Np. na str. 115 znajdujemy tekst: „odmiana Maresi o najmniejszej tolerancji na stres osmotyczny”, skąd to wiadomo? Pozostaje zatem pytanie: **jakie przesłanki mogą wskazywać ocenę tolerancji na suszę czy stres suszy. Czy mogą to być warunki klimatyczne, w których odmiany zostały wyhodowane?**
7. Istotne jest również zagadnienie zamiennego stosowania określeń takich jak: „stres suszy”, „susza, „niedobór wody”. W tytule pracy doktorantka sugeruje, że badania prowadzono w warunkach niskiej dostępności wody, natomiast jako cel przyjęła badania „zmian zachodzących podczas stresu suszy”. Podobnie tytuły rozdziałów wskazują na badania wpływu „stresu”, czy to glebowego czy osmotycznego. Czy zatem niedobór wody jest jednoznaczny ze stresem suszy? W tekście, np. na str. 76 rozpatrywany jest „stres suszy” przy pF 3,5. Na str. 118 w rozdziale Podsumowanie funkcjonują obydwa określenia, zarówno „niedobór wody”, jak i „stres suszy”. Na str. 12 w różnych kontekstach zastosowano określenia „krótkotrwały stres suszy”, „niedobór wody”, „czasowy niedobór wody glebowej”, „długotrwała susza”.

8. W rozdziale „Omówienie wyników” doktorantka prezentuje kolejne tabele i rysunki, stosując przy tym zwykle niewłaściwą formę, jak np. na str. 5 czytamy, że „procesy powstawania prezentuje rysunek” – powinno być „procesy powstawania przedstawiono na rysunku”. Na str. 87 „wartości średnich przedstawia Tabela 27”. Powinno być raczej „przedstawiono w Tabeli 27”.
9. Uzyskane wyniki badań traktuje na zimno, jak zwykle liczby, wartości znajdujące się w tabelach czy na rysunkach, które mają swoją nazwę i które trzeba zinterpretować. Oprócz tego, że jak wspomniałam wcześniej, wartości te były na ogół „wyższe”, a nie „większe” i „spadały” lub „wzrastały” zamiast „zmniejszały się”, to były na ogół „otrzymane”, a nie „uzyskane”, tak jakby z innego źródła, a nie w wyniku badań własnych. Dla przykładu: na str. 48 autorka pisze: „analiza statystyczna wykazała istotną różnicę pomiędzy wynikami oporu dyfuzyjnego”. Może lepszy wydźwięk spowodowałyby zastosowanie określenia „pomiędzy wartościami oporu dyfuzyjnego”? I dalej: „dla odmiany Sebastian nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy wynikami otrzymanymi dla stężeń itd...”, „wartości oporu dyfuzyjnego zmierzone ostatniego dnia stresu” zamiast „wartości oporu dyfuzyjnego po 10 dniach stresu”. Na str. 109 są widma „otrzymane”, a nie „uzyskane”, a na str. 111 „średnia z wyników otrzymanych”. Korzystniej dla tekstu i czytelnika byłoby używanie prezentowanych wartości bezpośrednio jako nazwy parametrów, które są wskaźnikami określonych procesów biologicznych i zastosowanie formy typu: „stres suszy powodował istotny wzrost oporu dyfuzyjnego aparatów szparkowych” czy „u odmiany Sebastian opór dyfuzyjny nie różnił się przy stężeniach mannitolu ...itd.”. Omówienie wyników w formie przedstawionej przez doktorantkę przybrało nie zamierzoną i bardziej ubogą formę sprawozdania z wyników „otrzymanych” do interpretacji. Omówienie to według tabel i rysunków dało pewien efekt przejrzystości opisu uzyskanych wyników badań, ale pozostawiło wrażenie suchych liczb czy słupków, a nie żywych zjawisk w żywej roślinie. We wspomnianych tabelach i na rysunkach dotyczących różnych wskaźników warto również zwrócić uwagę na konsekwentne ujednoczenie kolejności odmian. Wyjaśnienia pod rysunkami również wymagają modyfikacji, gdyż często dublują legendę.
10. W omówieniu wyników autorka stosuje również czas przeszły dokonany zamiast opisu zjawisk w czasie przeszłym niedokonanym, np. na str. 97: stres osmotyczny „wpłynął” lub „spowodował” zamiast „wpływał” czy „powodował”. Ponadto zmiany te dokonywały się „dla odmian” lub „dla obiektów”, a nie „u odmian” czy „w obiektach”. Np. na str. 111 opisywano „zmiany stężenia dla obiektów kontrolnych”, a na str. 112 i 115 „dla odmiany Sebastian stres osmotyczny spowodował wzrost stężenia aminokwasów...”
11. Niejednokrotnie również zmiany były „zauważane”, a nie „obserwowane” czy „stwierdzone”. Np. na str. 97 jest informacja, że „nie zauważono związku intensywności stresu osmotycznego ze zmianami wartości γ^P ”. W tekście naukowym właściwe wydaje się określenie „nie stwierdzono”. Na str. 108 z kolei jest „zauważono” zamiast „stwierdzono”. Podobnie stwierdzenie m.in. na str. 88 „nie było statystycznej różnicy” korzystnie byłoby zastąpić określeniem, że tej różnicy „nie stwierdzono”. Na str. 97 „nie zauważono związku”, wydaje mi się, że tego związku raczej „nie stwierdzono”.
12. Zwrócić należy uwagę również na stosowanie właściwych słów zależnie od kontekstu. Często używane przez doktorantkę słowo „zmiany” w odniesieniu do wartości

wskaźników prosi się o zastąpienie innym określeniem, np. „reakcja wskaźnika”. W tytule Rysunku 2 na str. 19 określenie „zmiany wilgotności ” można zastąpić określeniem „dynamika wilgotności”, tym bardziej, że jest przedstawiona w układzie czasowym. Doktorantka próbuje, co prawda, używać innych określeń, jak „odpowiedź korzenia” na str. 8 czy „odpowiedź rośliny” na str. 71, ale jest to typowa personifikacja i tutaj też bardziej stosowne wydaje się określenie „reakcja”. Str. 7, 8: w stosunku do suszy bardziej stosowne wydaje się określenie „skutek” zamiast „efekt”. Efekt jest raczej określeniem pozytywnym, które nie bardzo pasuje do negatywnych skutków suszy. Str. 9: Zamiast określenia „tempo fotosyntezy” w literaturze fachowej stosuje się określenie „intensywność fotosyntezy”. Jest to błąd wynikający z tłumaczenia angielskiego słowa „rate”. Na str. 9 doktorantka pisze: „Tolerancja rośliny na suszę jest zdefiniowana jako wrodzona zdolność do wzrostu, kwitnienia i wydawania plonu pod wpływem określonego niedoboru wody”, powinno być „pomimo niedoboru wody”. Podobnie na str 7 zastosowano określenia „jakość i wielkość wzrostu roślin” i dalej „zależy od mechanizmu, który został dotknięty deficytem wody”. Wydaje się, że w jednym zdaniu są dwa błędy. Wystarczyłoby użyć określenia „wzrost roślin” i zamiast słowa „dotknięty”, które jest personifikacją, wprowadzić słowo „uruchomiony”. Zdanie przybierze wtedy prostszą formę: „Wzrost roślin zależy od mechanizmu, który został uruchomiony na skutek deficytu wody”.

13. W wykazie piśmiennictwa znajduje się 9 pozycji, których cytowań nie znaleziono w tekście pracy. Ponadto aż 27 pozycji cytowanych w tekście nie uwzględniono w spisie literatury. Ilość ta może częściowo wynikać z błędnie wpisanego roku publikacji, zespołu autorów (np. brak dodatku „i in.”) lub błędu w nazwisku cytowanego autora. Są to również dwa adresy stron internetowych oraz źródło dostępu do projektu „Flow Regimes From International Experimental and Network Data (FRIEND)”.

Puławy, 14 grudnia 2016 r.

Ulicja Fedo