

Prof. dr hab. Andrzej Skoczowski
Instytut Biologii
Katedra Fizjologii Roślin
Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie
Ul. Podchorążych 2
30-084 Kraków
Tel. 501 28 60 73

Kraków, 18.08.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Liszniańskiej

pt.: „Charakterystyka fizjologiczna, biochemiczna i genetyczno-molekularna *Rumex tianschanicus x Rumex patientia* jako rośliny energetycznej” napisanej pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Joachimiaka.

Przedstawiona do oceny praca doktorska ma układ klasycznej dysertacji doktorskiej.

Problematyka pracy Doktorantki jest moim zdaniem bardzo ważna z dwóch powodów. Pierwszy to światowy kryzys energetyczny, który pojawił się w ostatnich miesiącach i, mam nadzieję, uświadomił mieszkańcom tzw. krajów wysokorozwiniętych konieczność poszukiwania alternatywnych, w stosunku do paliw kopalnych, źródeł energii. W tym przypadku badania Autorki wyprzedziły następstwa tragicznego konfliktu zbrojnego w Ukrainie. Powód drugi to konieczność szybkiego odejścia od paliw kopalnych w obliczu gwałtownych zmian klimatu, o których nikt poważny nie powie, że nie następują. Gwałtowne stepowanie klimatu wymaga od ludzkości właściwie natychmiastowego przejścia na tzw. odnawialne źródła energii do których należy między innymi biomasa. Jak słusznie zauważa Autorka, biomasa pozyskiwana głównie z roślin jest od kilku dziesięcioleci najlepiej poznanym i rozwijanym źródłem energii. Pozyskiwanie energii z mikro-alg (a po polsku poprawnie glonów) jest moim zdaniem znacznie trudniejsze. Wiem coś na ten temat, bo kilka lat mojej pracy naukowej poświęciłem mi. tym zagadnieniom.

Autorka zajęła się wieloletnią byliną *Rumex tianschanicus x Rumex patientia*, która jest mieszańcem pierwszej generacji uzyskanym w wyniku krzyżowania rośliny matecznej *Rumex patientia* L. (szpinaku angielskiego) z rośliną ojcowską *Rumex tianschanicus* A. Los. (szczaw Tien Sham). Jak wynika z informacji Autorki roślina ta uprawiana jest, jak dotąd jako roślina energetyczna głównie na terenie Czech.

We wstępie Doktorantka omawia zagadnienia związane z pojęciami takimi jak odnawialne źródła energii, biomasa oraz rośliny energetyczne. Przytacza także akty prawne obowiązujące w Unii Europejskiej oraz w Polsce, a dotyczące wskaźników udziału energii ze źródeł odnawialnych w ogólnym zużyciu energii. Następnie przechodzi do charakterystyki roślin będących przedmiotem Jej badań, a mianowicie mieszańca *Rumex tianschanicus* x *Rumex patientia* oraz roślin rodzicielskich mieszańca tj. *Rumex tianschanicus* oraz *Rumex patientia*. W części 1.2 Doktorantka zamieszcza informacje o charakterze dość podstawowym takie jak: proces fotosyntezy, jego parametry oraz produkty, a także informacje na temat podziału fitohormonów oraz ich działania. Moim zdaniem można by założyć, że na tym etapie czytelnik zna już budowę chloroplastu oraz przebieg fazy ciemnej fotosyntezy. Nie czynię jednak z tego większego zarzutu bowiem po pierwsze praca doktorska rządzi się swoimi prawami, a ponadto Autorka omawia ww. zagadnienia bardzo syntetycznie. Czuję natomiast pewien niedosyt w opisie zastosowania analizy fluorescencji chlorofilu *a* do monitorowania stanu fizjologicznego roślin. Jest to o tyle istotne, że Doktorantka jako pierwszy z wymienionych na str. 28 celów pracy stawia: „ustalenie, który etap kultury *in vitro* jest kluczowy dla rozwoju wydajnego aparatu fotosyntetycznego u *Rumex tianschanicus* x *Rumex patientia*...”.

Autorka formułuje 5 celów badawczych, które analizowała w przedstawionej do oceny pracy. Mam wątpliwości czy chronologia (hierarchia) tych celów nie powinna być nieco zmieniona. Mianowicie biorąc pod uwagę zagadnienia, które są badane w dysertacji, a wymienione w jej tytule cel pracy wymieniony na pozycji 3-ciej powinien być wymieniony jako pierwszy. Natomiast cel pracy sformułowany jako 1-szy wynika wyłącznie z metodyki badań *in vitro* prowadzonych przez Autorkę. Nie zmienia to faktu, że ja osobiście ten wątek badań Doktorantki uważam za najcenniejszy, ale do tego zagadnienia wrócę ponownie później. Natomiast cel pracy sformułowany jako 5-ty uważam za zbędny bowiem to, że jako rośliny energetyczne lepiej od form rodzicielskich sprawdzają się krzyżówki jest dość oczywiste bez prowadzenia dodatkowych badań.

Muszę przyznać, że ilość zastosowanych w pracy metod badawczych jest imponująca. Pomijając zróżnicowane metody pozyskiwania roślin do badań (kultury *in vitro* i dwuletnie uprawy polowe) oraz powszechnie używanych metod biometrycznych (pomiaru masy i wysokości roślin) Doktorantka zastosowała także szereg klasycznych jak i bardziej

nowoczesnych technik analitycznych. Mam tu na myśli zarówno biochemiczne oznaczenia zawartości barwników fotosyntetycznych, cukrów rozpuszczalnych oraz związków fenolowych jak i oznaczenia zawartości fitohormonów metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją masową, a także badania genetyczno-molekularne. Do tego należy dodać przeprowadzone badania sprawności aparatu fotosyntetycznego roślin poprzez pomiar wybranych parametrów fluorescencji chlorofilu *a* oraz bezpośrednio pomiary wymiany gazowej.

Zarówno ze względu na ilość zastosowanych metod jak i na fakt, że Doktorantka część badań prowadziła przez dwa lata (2018-2019) ilość przedstawionych w pracy danych jest bardzo duża. Dlatego też nie będę odnosił się szczegółowo do wszystkich przedstawionych rezultatów. Skupię się jedynie na tych, które uważam za najistotniejsze. Moim zdaniem najistotniejsze z naukowego punktu widzenia rezultaty uzyskała Doktorantka badając, a raczej porównując, ukorzenione i nieukorzenione regeneranty *Rumex tianschanicus* x *Rumex patientia*. Już z badań nad sprawnością fotochemiczną PSII (str. 52-57) jasno wynika, że obecność lub brak systemu korzeniowego w istotny sposób wpływa na aparat fotosyntetyczny regenerantów niezależnie od tego czy system korzeniowy był wytworzony (obecny) jeszcze w warunkach *in vitro* czy też dopiero po aklimatyzacji do warunków *ex vitro*. Podobnie, jeśli dobrze rozumiem, struktura chloroplastów (str.58-59) w pędach przybyszowych zregenerowanych *in vitro* różniła się istotnie od tych ukorzenionych zarówno w warunkach *in vitro* jak i aklimatyzowanych do warunków *ex vitro* (Ryc. 16). Podobnie ukorzenienie miało wpływ na inne badane przez Doktorantkę parametry morfologiczne powiązane z fotosyntezą takie jak: zagęszczenie aparatów szparkowych, indeks szparkowy czy też długość aparatów szparkowych (str. 60-63). Wszystko to wskazuje na kluczową rolę systemu korzeniowego w formowaniu się aparatu fotosyntetycznego u roślin. Moim zdaniem ten wątek zasługuje na odrębne i dogłębne badania, które powinny zostać przeprowadzone w Zespole, z którego wywodzi się Doktorantka. Myślę, że Doktorantka zdaje sobie sprawę z wagi swoich obserwacji bowiem w dyskusji sporo miejsca poświęca właśnie temu zagadnieniu. Prace przywołane przez Autorkę w dyskusji (Sáez i in. 2012 oraz Kaldeček i in. 2001) nie tłumaczą jednak moim zdaniem obserwacji poczynionych przez nią w swojej pracy. Dlatego też mam do Doktorantki pytanie:

dłaczego, Pani zdaniem, obecność systemu korzeniowego jest (czy też może być) kluczowa dla wytworzenia sprawnego aparatu fotosyntetycznego u roślin oraz czy dotyczy to tylko

***Rumex tianschanicus* x *Rumex patientia* (bo tak mogłoby wynikać ze sformułowanego przez Panią wniosku numer 1).**

W drugim z wniosków Doktorantka napisała, że (cytuję): „badane parametry fizjologiczne i biochemiczne mieszańca z kultur *in vitro* nie wykazują istotnych różnic w stosunku do mieszańca uzyskanego z nasion” (koniec cytatu). Mam zatem do Doktorantki pytanie:

dlaczego (lub też z jakiego powodu) takie różnice mogłyby Pani zdaniem wystąpić?

Reasumując. Przedstawiona do oceny praca została przygotowana bardzo starannie, choć jak to zazwyczaj bywa, Doktorantka nie ustrzegła się pewnych błędów i niezręczności. W spisie skrótów niepotrzebnie wyjaśniana jest moim zdaniem nazwa Tris. Jest to bowiem fragment nazwy chemicznej buforu taki sam zarówno w języku polskim jak i angielskim. Na str. 68 w podpisie do Ryc. 35. czytamy, że: „te same litery oznaczają istotność statystyczną ANOVA, $p < 0,05$, istotne statystycznie różnice wystąpiły pomiędzy wszystkimi miesiącami nie zaznaczono tego na wykresie.” Wydaje mi się, że jest to prawdopodobnie błąd wynikający z procedury „kopiuj-wklej”. Ryc. 40 (str. 72) w podpisie czytamy: Średnie pole powierzchni roślin M-R... (nie znam pojęcia średnie pole powierzchni roślin i nie mogłem znaleźć wytłumaczenia tego pojęcia w tekście). W opisie stopnia uwodnienia roślin podczas zbioru w drugim roku uprawy (rozdział 4.2.2, str. 73) wkradły się błędy stylistyczne. Nawiasem mówiąc Autorka opisała poprawnie procedurę pomiaru uwodnienia wcześniej, w części metodycznej, na str. 42.

W rozdziale 4.2.4 poświęconemu omówieniu wymiany gazowej liści roślin rosnących w warunkach laboratoryjnych i polowych Autorka nazywa wartości „ P_N ” (fotosyntezy netto) współczynnikiem wydajności fotosyntezy natomiast wartości „ E ” (natężenia transpiracji) współczynnikiem transpiracji. Współczynnik to zazwyczaj liczba stojąca jako czynnik przy zmiennej. W przypadku P_N jest to po prostu wydajność fotosyntezy netto wyrażona w ilości zaasymilowanego CO_2 na jednostkę powierzchni liścia w jednostce czasu ($\mu mol CO_2 \cdot m^{-2} s^{-1}$) natomiast w przypadku natężenia transpiracji (E) to ilość wytranspirowanej wody na jednostkę powierzchni liścia na jednostkę czasu ($mmol H_2O \cdot m^{-2} s^{-1}$). Nawiasem mówiąc współczynnik transpiracji oznacza zupełnie coś innego niż jej natężenie. W przypadku współczynnika wykorzystania wody (WUE) określenie współczynnik jest uzasadnione, bo jest to stosunek

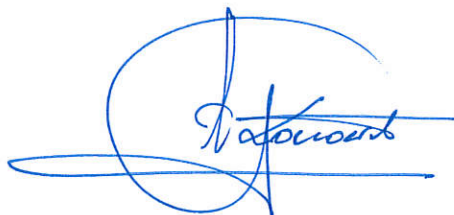
ilości zaasymilowanego CO₂ do ilości wytranspirowanej w tym samym czasie wody, czyli *de facto* wartość bezwymiarowa (Ryc. 48, str. 78).

Autorka przytacza w pracy 156 pozycji literaturowych. Zazwyczaj zwracam na to uwagę, bo zbyt duża ilość cytowanych pozycji wzbudza podejrzenie, że autor bądź autorka prawdopodobnie nie byli w stanie zapoznać się osobiście ze wszystkimi przytaczanymi pracami. W przypadku recenzowanej pracy takich podejrzeń nie mam, a co więcej z satysfakcją zauważyłem dwie pozycje, w których Doktorantka jest współautorką. Ponadto uważam za słuszne cytowanie polskich prac w dysertacji, która odnosi się do zagadnień związanych bezpośrednio z problemami dotyczącymi także naszego kraju. To bardzo rozsądne podejście. Niemniej Doktorantka dość nieszczęśliwie zacytowała publikację dotyczącą metody oznaczania hormonów roślinnych, której jestem współautorem, ale niestety podczas cytowania zostałem w spisie autorów pominięty (poz. 34, str. 111). Oświadczam jednak, że fakt ten pozostał bez wpływu na moją ocenę pracy Doktorantki.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca pt. **„Charakterystyka fizjologiczna, biochemiczna i genetyczno-molekularna *Rumex tianschanicus* x *Rumex patientia* jako rośliny energetycznej”** spełnia wszystkie warunki określone w artykule 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, z 2010 r. Nr 96, poz. 620, Nr 182, poz. 1228, z 2011 r. Nr 84, poz. 455).

Zwracam się zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Magdaleny Liszniańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Andrzej Skoczowski