

Prof. dr hab. Hanna Bandurska
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Katedra Fizjologii Roślin
ul. Wołyńska 35
60-637 Poznań

Poznań, 6 grudnia 2022

Wpłynęło dnia:

09. 12. 2022

Dziekanat Wydziału
Biotechnologii i Ogrodnictwa URK

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr-a inż. Jakuba Pastuszaka pt.: „Tolerancja wybranych form pszenicy twardej (*Triticum durum* Desf.) na zasolenie gleby, jony kadmu oraz porażenie *Fusarium culmorum*” wykonanej w Katedrze Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Agnieszki Płażek

1. Podstawa opracowania recenzji

Podstawą formalną recenzji jest pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie prof. dr hab. Marcina Rapacza powierzające mi wykonanie recenzji na podstawie uchwały RD z dnia 12.10.2022. Celem recenzji jest stwierdzenie czy przedłożona rozprawa doktorska spełnia wymogi określone artykułem 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2016, poz. 882 z późn. zm.).

2. Opis formalny rozprawy

Zasadniczym elementem przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej Pana mgr-a inż. Jakuba Pastuszaka jest osiągnięcie naukowe w postaci czterech spójnych tematycznie, anglojęzycznych publikacji, które ukazały się w latach 2020, 2021 i 2022:

1. Pastuszak J., Kopeć P., Płażek A., Gondek K., Szczerba A., Hornyák M., Dubert F. 2020. Cadmium accumulation in the grain of durum wheat is associated with salinity resistance degree. *Plant Soil Environ.*, 66: 257-263.
2. Pastuszak J., Kopeć P., Płażek A., Gondek K., Szczerba A., Hornyák M., Dubert F. 2020. Antioxidant activity as a response to cadmium pollution in three durum wheat genotypes differing in salt-tolerance. *Open Chemistry*. 18, 1230-1241.
3. Pastuszak J., Dziurka M., Hornyák M., Szczerba A., Kopeć P., Płażek A. 2022. Physiological and Biochemical Parameters of Salinity Resistance of Three Durum Wheat Genotypes. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 8397.

4. Pastuszak J., Szczerba A., Dziurka M., Hornyák M., Kopec P., Szklarczyk M., Płazek A. 2021. Physiological and Biochemical Response to *Fusarium culmorum* Infection in Three Durum Wheat Genotypes at Seedling and Full Anthesis Stage. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 7433.

Wszystkie prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach międzynarodowych notowanych w bazie JCR, tj. *Plant, Soil and Environment* (IF₂₀₂₁ 2,328, Q2), *Open Chemistry* (IF₂₀₂₁ 1,95, Q3) oraz *International Journal of Molecular Sciences MDPI* (IF_{2021, 2022} 6,208, Q1). Sumaryczny współczynnik oddziaływania wynosi **16,694** a łączna wartość punktowa publikacji wchodzących w zakres pracy doktorskiej wg MEiN równa się **420**. Artykuły opublikowane przez Doktoranta zostały dotychczas zacytowane od 3 do 5 razy (wg bazy Web of Science) co wskazuje, że problematyka podjęta w badaniach realizowanych przez Doktoranta jest aktualna. Artykuły stanowiące recenzowaną rozprawę są 6 i 7-autorskie. We wszystkich artykułach Doktorant jest pierwszym autorem, w trzech artykułach jest autorem korespondencyjnym.

Badania prowadzone w ramach przedstawionej do oceny rozprawy realizowane były w Katedrze Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Rozprawa doktorska została przygotowana w formie opracowania zawierającego wykaz prac naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, streszczenia w języku polskim i angielskim, 30-stronicowe omówienie przeglądu literatury, hipotez badawczych i celu pracy, uzyskanych wyników, wnioski oraz spis literatury. Opracowanie zawiera również załączniki, którymi są kopie czterech prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Zgodnie z wymogami opracowanie zawiera oświadczenia współautorów publikacji, w których podany jest ich indywidualny wkład w powstanie każdej z prac, opatrzone podpisami. Z oświadczeń współautorów i samego Doktoranta wynika, że Jego udział w powstaniu prac był znaczący. Autor uczestniczył w opracowywaniu metodologii doświadczeń, planowaniu i prowadzeniu eksperymentów, przygotowywaniu materiału roślinnego do analiz, wykonywaniu analiz biochemicznych i fizjologicznych oraz parametrów plonu. Ponadto Doktorant opracowywał wyniki badań, wykonywał analizę statystyczną uzyskanych wyników oraz graficzną ich wizualizację i uczestniczył w przygotowywaniu manuskryptów prac do opublikowania. Na tej podstawie stwierdzam wiodący udział Doktoranta w przedłożonej do recenzji dysertacji.

Całość opracowania jest przygotowana starannie, a jego układ jest klarowny i logiczny. Część opracowania obejmująca omówienie celu naukowego rozprawy i

ważniejszych wyników jest podzielona na następujące rozdziały: „Wprowadzenie”, „Przegląd literatury”, „Hipotezy badawcze i cel pracy”, „Materiał i metody”, „Najważniejsze wyniki z przeprowadzonych badań”, „Wnioski”, „Spis literatury”.

Wprowadzenie przedstawia krótkie uzasadnienie wyboru pszenicy twardej jako materiału badawczego. W przeglądzie literatury Doktorant omawia stanowisko systematyczne, charakterystykę genotypową i fenotypową pszenicy twardej, historię jej uprawy, wymagania klimatyczno-glebowe i agrotechniczne oraz znaczenie gospodarcze. W ostatniej części tego rozdziału omawia wrażliwość pszenicy twardej na zasolenie, zwiększone stężenie jonów kadmu i porażenie grzybami z rodzaju *Fusarium* oraz uwarunkowania genetyczne tej wrażliwości, a także zmiany biochemiczne i fizjologiczne będące następstwem oddziaływania tych czynników stresowych.

W rozdziale „Hipotezy badawcze i cel pracy” przedstawiono 5 hipotez badawczych oraz cel badań służący ich zweryfikowaniu, polegający na określeniu zależności pomiędzy oznaczanymi parametrami biochemicznymi i fizjologicznymi, a odpornością pszenicy twardej na zasolenie gleby, skażenie gleby jonami kadmu oraz infekcję grzybową. Ambitnym ale słabo zaakcentowanym celem pracy było poszukiwanie wspólnego podłoża różnej odporności trzech badanych genotypów pszenicy twardej na analizowane czynniki stresowe.

W rozdziale „Materiał i metody” scharakteryzowany został materiał badawczy. Następnie przedstawiono schematy eksperymentów (w postaci tabeli) wykonywanych podczas realizacji badań opisanych w poszczególnych pracach. Przedstawiono też spis stosowanych metod i analiz wykonywanych w poszczególnych doświadczeniach w celu oceny wpływu badanych czynników stresowych na zmiany metaboliczne i fizjologiczne pszenicy twardej oraz jej odporność na te czynniki.

W rozdziale „Najważniejsze wyniki z przeprowadzonych badań” Doktorant opisuje wybrane wyniki uzyskane w trakcie realizacji badań. Jednak nie konfrontuje tych wyników z dostępnymi wynikami publikacji z danej tematyki badawczej. Co może być usprawiedliwione gdyż dyskusja wyników zawarta została w każdej z prac wchodzących w zakres osiągnięcia naukowego. Jednak recenzentowi trudno jest oceniać/rozpoznać jaki był wkład Doktoranta w dyskusję wyników w poszczególnych pracach oraz ich konfrontację z danymi literaturowymi. Brakuje też syntetycznej analizy wyników uzyskanych w pracach wchodzących w zakres osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem recenzowanej dysertacji. Ponadto, cenne byłoby odniesienie uzyskanych wyników do najnowszych publikacji, z danej dziedziny, które ukazały się po opublikowaniu prac wchodzących w zakres recenzowanej dysertacji.

W kolejnym rozdziale „Wnioski” Doktorant formułuje aż 12 szczegółowych wniosków. W moim przekonaniu jest to raczej spis uzyskanych wyników i obserwowanych zależności a nie wnioski, które powinny być tak sformułowane, aby stanowiły odpowiedź (próbę odpowiedzi) na postawiony wcześniej cel badań. Ponadto niektóre wnioski, np. wniosek 2 nie znajdują potwierdzenia w wynikach i są jedynie przypuszczeniami. Wnioski 1 i 3 należałoby połączyć w jeden wniosek bardziej precyzyjnie podający zależność pomiędzy wydajnością aparatu fotosyntetycznego, stresem oksydacyjnym (stosunek GSH:GSSG i inne) a poziomem kadmu akumulowanego w ziarnie. W jeden syntetyczny wniosek należałoby ująć informacje dotyczące oceny odporności zawarte we wnioskach 4, 6, 7 oraz 8 i powiązać je z parametrami biochemicznymi (wniosek 7 i 8). Nie bardzo rozumiem wniosek 5. W mojej ocenie te parametry różnicują badane genotypy ale nie odzwierciedlają różnic w odporności na zasolenie. Wnioski od 9 do 12 należałoby zredukować do dwóch, Połączyć wniosek 9, 11 i 12, a wniosek 10 uzupełnić o wyniki dotyczące roli związków fenolowych. W ten sposób podsumowanie najważniejszych wyników będzie obejmowało 4-5 syntetycznych wniosków.

Ostatni rozdział stanowi „Spis literatury” z 90 pozycjami literaturowymi. Całość opisaną powyżej 30-stronicowej części pracy napisana jest językiem poprawnym. Autor nie ustrzegł się jedynie drobnych błędów stylistycznych jednak nie mają one wpływu na ogólną ocenę pracy i nie umniejszają w żaden sposób jej wartości naukowej.

Z formalnego punktu widzenia rozprawa Pana mgr-a inż. Jakuba Pastuszaka nie budzi żadnych zastrzeżeń, a fakt opublikowania prac w dobrych i bardzo dobrych czasopismach naukowych wskazuje na wysoką wartość merytoryczną dysertacji. Stwierdzam, że przyjęta i zaprezentowana forma dysertacji spełnia wymagania stawiane eksperymentalnym pracom doktorskim w myśl Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami).

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Podjęte badania dotyczą ważnego dla rolnictwa zagadnienia odporności pszenicy twardej na zasolenie, zwiększone stężenie jonów kadmu oraz porażenie grzybem z rodzaju *Fusarium culmorum*.

Ziarno pszenicy twardej jest źródłem wielu składników odżywczych (błonnik, witaminy, pierwiastki mineralne) a mąka uzyskana po przemiale ziarna cechuje się lepszymi parametrami jakościowymi (duża zawartość białka i glutenu) niż mąka pszenicy zwyczajnej. Wykorzystywana jest do produkcji wysokiej jakości makaronów oraz jako dodatek

wpływający na poprawę smaku różnego rodzaju ciast i chleba. Dlatego uprawa tego gatunku w Polsce nabiera coraz większego znaczenia.

Pszenica twarda ma większe wymagania temperaturowe, a mniejsze wymagania wodne niż pszenica zwyczajna. Sprzyjające warunki pogodowe dla uprawy tego gatunku występują w rejonach suchych i ciepłych z ograniczoną liczbą opadów atmosferycznych. Zmiany klimatyczne przejawiające się coraz wyższymi temperaturami letnimi, obniżającymi się zasobami wodnymi oraz wydłużeniem okresu wegetacji są czynnikiem sprzyjającym uprawie pszenicy twardej w Polsce.

Jednak gatunek ten charakteryzuje się dużą podatnością na infekcje grzybowe, posiada predyspozycje do zwiększonej akumulacji jonów kadmu oraz jest wrażliwy na zasolenie. Choroby grzybowe pszenicy, są jednym z głównych czynników powodujących spadek plonu ziarna, a także obniżenie jego jakości. Grzyby z rodzaju *Fusarium* są zaliczane do najważniejszych czynników chorobotwórczych pszenicy. W latach, gdy dochodzi do silnego porażenia straty plonu przekraczają 45 procent.

Istotnym czynnikiem wpływającym zarówno na jakość jak i wielkość plonu roślin zbożowych jest zwiększone stężenie jonów kadmu w glebie. Głównym źródłem zanieczyszczenia gleby tym pierwiastkiem jest przemysł hutniczy, chemiczny, fabryki baterii i akumulatorów a także rolnictwo.

Zasolenie gleb spowodowane stosowaniem nadmiernych dawek nawozów mineralnych w formie soli, zanieczyszczeniami przemysłowymi czy zmniejszającymi się zasobami wody w glebach i koniecznością stosowania sztucznego nawadniania upraw jest również istotnym problem w uprawie roślin. Dlatego, uważam, że podjęta w dysertacji tematyka jest aktualna i ważna.

Obiekt badań i cel rozprawy

Materiał badawczy (wspólny dla publikacji wchodzących w skład rozprawy) stanowiły trzy genotypy pszenicy twardej. Średnio odporna na zasolenie Polska linia SMH87 pochodząca z hodowli HR Smolice oraz dwa genotypy australijskie z CSIRO Plant Industry, tj. odmiana Tamaroi (bardzo wrażliwa na zasolenie) oraz linia BC₅Nax₂ o dużej odporności na zasolenie dzięki sprawnemu mechanizmowi ograniczania akumulacji jonów sodu w liściach.

Głównym celem przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej było określenie zależności pomiędzy zmianami wybranych parametrów fizjologicznych i biochemicznych, a odpornością na skażenie gleby jonami kadmu, zasolenie gleby chlorkiem sodu i infekcją

grzybową *Fusarium culmorum*. Elementem łączącym wszystkie prace była ocena reakcji na badane czynniki stresowe na podstawie wskaźników plonu oraz aktywności antyoksydacyjnej. Natomiast elementem łączącym prace dotyczące stresu kadmowego i zasolenia były dodatkowo parametry fluorescencji chlorofilu i wymiany gazowej.

Zastosowane metody badawcze i najważniejsze osiągnięcia

W pierwszych dwóch publikacjach wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej podjęto próbę oceny wpływu dwóch różnych stężeń jonów kadmu w glebie na parametry fluorescencji chlorofilu i wymiany gazowej (publikacja 1) oraz parametry stresu oksydacyjnego (publikacja 2) u badanych genotypów pszenicy twardej. Oceniano też wpływ skażenia gleby kadmem na parametry plonu oraz akumulację jonów tego metalu w ziarnie.

Uzyskane wyniki w pewnym stopniu potwierdziły hipotezę roboczą pracy iż odmiana Tamaroi o małej odporności na zasolenie charakteryzowała się również małą odpornością na zanieczyszczenia gleby jonami kadmu co przejawiało się największym w porównaniu do pozostałych genotypów obniżeniem (przy obu stężeniach kadmu) większości wskaźników fluorescencji chlorofilu, a w szczególności wskaźnika funkcjonowania PSII (PI). Odporność na skażenie kadmem wynikająca z tolerancji jego zwiększonego stężenia w komórkach może być związana z aktywnością systemu antyoksydacyjnego i rolą sygnałną nadtlenku wodoru. 'Tamaroi', u której stwierdzono największą akumulację jonów kadmu w ziarnie charakteryzowała się wysoką aktywnością systemu antyoksydacyjnego liścia flagowego w warunkach nie skażonych jak i skażonych kadmem pomimo obniżenia aktywności tego systemu pod wpływem kadmu. Wysoka aktywność systemu antyoksydacyjnego u roślin tej odmiany skażonych kadmem skutkowała znacznym obniżeniem stężenia nadtlenku wodoru w liści flagowym.

Inaczej było u pozostałych genotypów, które akumulowały mniej kadmu w ziarnie. Odnotowano u nich wzrost poziomu nadtlenku wodoru w liściu flagowym i znacznie mniejszą aktywność systemu antyoksydacyjnego niż u 'Tamaroi'.

Ciekawym i zastanawiającym wynikiem jest wysoka aktywność APX w warunkach kontrolnych u odpornej na zasolenie linii BC₅Nax₂ oraz znaczne obniżenie (większe niż u 'Tamaroi') tej aktywności pod wpływem kadmu, które korelowało ze wzrostem poziomu nadtlenku wodoru.

Tutaj mam pytania do Doktoranta; na czym miałyby polegać wspomniana w pracy rola sygnałna nadtlenku wodoru oraz czy wysoka aktywność systemu antyoksydacyjnego sprzyja akumulacji jonów kadmu w ziarnie?

Zaskakujący jest niewielki wpływ kadmu na obniżenie fotosyntezy netto, szczególnie u wrażliwej odmiany Tamaroi, pomimo znacznego obniżenia przewodności szparkowej. Czy można to jakoś wyjaśnić?

Skażenie kadmem nie wpływało negatywnie na ilość plonu u żadnej z badanych odmian. Przy niższym stężeniu tego metalu wywoływało nawet efekt hormezy u SM187 i BC₅Nax₂ polegający na zwiększeniu liczby i masy ziaren w kłosie. Brak negatywnego wpływu kadmu ujawnił się też przez brak symptomów uszkodzeń na liściach (plamy nekrotyczne, zwijanie liści). Pewne wyjaśnienie tych zaskakujących wyników można by uzyskać na podstawie oznaczenia stężenia kadmu w liściu flagowym. Czy takie oznaczenia były wykonywane?

Być może zdolność do akumulacji jonów kadmu w ziarnie jest jednym z elementów strategii odporności polegającym na unikaniu jego gromadzenia w liściach co zapobiega negatywnemu oddziaływaniu na metabolizm, a w konsekwencji wzrost i plonowanie. Nie można też wykluczać, że mniejsza akumulacja jonów kadmu w ziarnie była efektem ograniczenia pobierania tego jonu z gleby. Być może ta strategia występuje u odpornej na zasolenie linii BC₅Nax₂, u której zawartość jonów kadmu w ziarnie była najmniejsza.

Obserwowane u 'Tamaroi' największe obniżenie wskaźnika funkcjonowania PSII (PI) wskazuje na dużą wrażliwość jej aparatu fotosyntetycznego. Jednak, brak negatywnego wpływu skażenia kadmem na wskaźniki plonu świadczy raczej o odporności na ten czynnik stresowy. Z punktu widzenia przydatności/jakości ziarna duże stężenie kadmu jest cechą niekorzystną. Tak więc, negatywny wpływ skażenia kadmem na plon pszenicy twardej polega raczej na obniżeniu jego jakości. W mojej ocenie nie została potwierdzona hipoteza, że odporność badanych genotypów na zasolenie jest związana z odpornością na skażenie kadmem. Cechą różnicującą badane genotypy w stresie kadmowym był różny poziom kadmu akumulowanego w ziarnie, a nie odporność oceniana na podstawie plonu ziarna.

W kolejnej pracy (publikacja 3) podjęto próbę znalezienia biochemiczno-fizjologicznych markerów wyjaśniających różnice w odporności na zasolenie badanych genotypów pszenicy twardej. Dla zrealizowania tego celu oceniono odporność na zasolenie na etapie kiełkowania (% siewkowania nasion, wigor, długość koleoptyla, indeks podatności na zasolenie, wypływ elektrolitów), w fazie liścia flagowego (parametry fluorescencji chlorofilu i wymiany gazowej) a na końcu wegetacji, po zbiorach oznaczano parametry plonu (ilość i sucha masa ziaren w kłosie, masa tysiąca ziaren). Następnie podjęto próbę powiązania różnic w odporności ze zmianami na poziomie metabolicznym (poziom chlorofilu i karotenoidów, rozpuszczalnych cukrowców, całkowity poziom fenoli, poziom fenoli

związanych w ścianie komórkowej, aktywność enzymów antyoksydacyjnych, poziom H_2O_2).

Zarówno parametry kiełkowania jak i parametry plonu ziarna potwierdzają, że największą odpornością na zasolenie cechuje się genotyp BC_5Nax_2 a najmniejszą odmiana Tamaroi.

Te różnice nie znalazły jednak wyjaśnienia w przebiegu zmian parametrów fluorescencji chlorofilu. Wyniki wskazują tutaj na pewną specyfikę genotypową w charakterze zmian tych parametrów. W większości parametrów istotne zmiany świadczące o niekorzystnym wpływie zasolenia na przebieg fazy świetlnej procesu fotosyntezy stwierdzono przy najwyższym stężeniu soli. Dotyczyły one w szczególności średnio odpornej na zasolenie polskiej odmiany SM187. U dwóch australijskich genotypów, tj. odpornej linii BC_5Nax_2 oraz wrażliwej 'Tamaroi' zmiany większości parametrów fluorescencji chlorofilu kształtowały się podobnie. Natomiast, inaczej niż w reakcji na skażenie kadmem, największe obniżenie indeksu funkcjonowania aparatu fotosyntetycznego (PI) stwierdzono, przy najwyższym stężeniu soli, u odpornego genotypu BC_5Nax_2 .

Co ciekawe u dwóch wrażliwych na zasolenie odmian stwierdzono różnice w reakcji na podstawie zmian indeksu PI. U polskiej odmiany SM187 odnotowano wzrost PI przy wszystkich stężeniach soli, a u 'Tamaroi' niewielkie obniżenie przy największym stężeniu soli. Ten brak negatywnego wpływu zasolenia na funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego (PI) u polskiej odmiany SM187 mógł być efektem zwiększenia aktywności katalazy, która skutecznie obniżała poziom szkodliwego nadtlenu wodoru. Natomiast warty wyjaśnienia jest wyraźny wzrost indeksu PI u tej odmiany pod wpływem wszystkich stężeń soli.

Analiza zmian parametrów wymiany gazowej również nie pozwala na jednoznaczne wyjaśnienie różnic w odporności na zasolenie na podstawie redukcji plonów. Na uwagę zasługuje wzrost intensywności fotosyntezy netto u polskiej odmiany SM187 w reakcji na wszystkie stężenia soli oraz wspomniany wcześniej wzrost indeksu PI. Świadczy to o zdolności do radzenia sobie ze stresem prawdopodobnie poprzez mechanizm dostosowania osmotycznego (akumulacja cukrowców) skutkujący znacznie mniejszym u tej odmiany niż u pozostałych genotypów obniżeniem przewodności szparkowej, a przy najmniejszym stężeniu soli nawet brakiem obniżenia. Wydaje się, że redukcja plonów pod wpływem zasolenia, mimo zwiększenia intensywności fotosyntezy netto u tej odmiany mogła być efektem skierowania asymilatów (cukrowców) na uruchomienie strategii radzenia sobie ze stresem, w tym wspomnianej strategii dostosowania osmotycznego. Akumulację cukrowców obserwowano również u pozostałych genotypów ale nie była ona skuteczna w zapobieganiu

zmniejszania przewodności szparkowej, i obniżenia intensywności fotosyntezy netto. Ponadto, u 'Tamaroi' przyczyną obniżenia aktywności fotosyntetycznej mógł być stres oksydacyjny spowodowany znacznym wzrostem poziomu nadtlenu wodoru skutkujący obniżeniem poziomu chlorofilu i karotenoidów. Zastanawiająca jest też reakcja najbardziej odpornej za zasolenie linii BC₅Nax₂ (najmniejsze obniżenie plonu ziarna), u której przy wszystkich stężeniach soli stwierdzono obniżenie intensywności fotosyntezy netto.

Wyniki prezentowane w tej pracy potwierdzają różną wrażliwość badanych genotypów pszenicy twardej na zasolenie na podstawie plonu. Świadczą też o dużej złożoności mechanizmów radzenia sobie ze stresem oraz o różnicach pomiędzy badanymi genotypami w uruchamianiu tych mechanizmów. Nie dają jednak zadawalającego wyjaśnienia podłoża różnic w odporności na ten czynnik stresowy. Wpływ zasolenia na dwa parametry fluorescencji chlorofilu, tj. maksymalną wydajność reakcji rozszczepienia wody po stronie donorowej PSII (F_v/F_0) oraz rozpraszanie energii z PSII wskazują na różnice w reakcji pomiędzy średnio wrażliwą na zasolenie polską odmianą SM187 a genotypami australijskimi (odporną linią BC₅Nax₂ oraz wrażliwą odmianą Tamaroi). Dlatego nie mogę zgodzić się z sugestią, że te parametry „...mogą być stasowane jako różnicujące genotypy pszenicy twardej pod względem tolerancji na zasolenie”. Szczegółowe wyjaśnienie jakie jest podłoże różnic w odporności na zasolenie pomiędzy badanymi genotypami pszenicy twardej oraz wyznaczenie parametrów przydatnych w ocenie tej odporności wymaga dalszych badań. Doktorant w swoim opracowaniu sugeruje potrzebę przeprowadzenia dalszych badań. W jakim kierunku i z wykorzystaniem jakich narzędzi powinny one dalej być prowadzone zdaniem Doktoranta?

Celem badań w kolejnej, czwartej pracy było określenie wpływu infekcji *Fusarium culmorum* na pojawienie się zmian chorobowych w liściach i korzeniach siewek pszenicy, na świeżą masę liści i korzeni oraz na zmiany wybranych parametrów biochemicznych związanych z odpornością na infekcję. Ponadto, w fazie kłoszenia oznaczano indeks fuzariozy kłosów, zawartość mykotoksyn w ziarnie oraz parametry plonu. Uzyskane wyniki wskazują na różnice w odporności na porażenie *Fusarium culmorum* (świeża masa liści i korzeni, plon ziarna, zawartość barwników chloroplastowych, stopień porażenia) pomiędzy badanymi genotypami, które są zgodne z różnicami w odporności na zasolenie. W badaniach tych najbardziej podatna na porażenie była polska odmiana SM187 a najbardziej odporna linia BC₅Nax₂. Zmiany w aktywności antyoksydacyjnej oraz zmiany w poziomie nadtlenu wodoru w liściach nie wyjaśniają różnic w odporności na porażenie. Wyniki wskazują, że przyczyną większej odporności BC₅Nax₂ może być wysoki poziom substancji fenolowych,

które uczestniczą we wzmacnianiu ściany komórkowej oraz pełnią funkcję antyoksydacyjną. Wysokiemu poziomowi fenoli w tkankach infekowanych sprzyjał podwyższony poziom cukrowców, które mogą służyć jako źródło energii do syntezy związków fenolowych. Zatem podłoże fizjologiczno-biochemiczne większej odporności BC₅Nax₂ na porażenie *Fusarium culmorum* jest inne niż odporności na zasolenie.

Na koniec mam uwagę natury terminologicznej. Zarówno w publikacjach jak i w autoreferacie Doktorant dosyć dowolnie używa pojęć tolerancja i odporność na stres. Uważam, że te pojęcia nie powinny być używane zamiennie ponieważ mają nieco inne znaczenie i ich stosowanie wymaga doprecyzowania oraz podania kryteriów. Roślina odporna toleruje obecność/wystąpienie czynnika stresowego w środowisku dzięki przystosowaniom o charakterze adaptacyjnym lub/ oraz aktywacji mechanizmów dostosowawczych. Te mechanizmy i przystosowania obejmują tzw. strategię unikania stanu stresu w roślinie oraz/ lub strategię tolerowania stanu stresu w roślinie. W znaczeniu biologicznym (ważnym dla rośliny) odporność jest to takie radzenie sobie ze stresem, które umożliwia jego przeżycie i wydanie potomstwa. W znaczeniu rolniczym (ważnym dla rolnika) kryterium odporności jest wielkość plonu. Im mniejsza redukcja plonu tym większa odporność. Dlatego z punktu widzenia praktyki rolniczej istotne jest poszukiwanie takich mechanizmów radzenia sobie ze stresem, których aktywacja warunkuje stabilne plonowanie, czyli w jak najmniejszym stopniu niekorzystnie wpływa na plon.

Podsumowując merytoryczną ocenę pracy stwierdzam, że wyniki zaprezentowane w recenzowanej rozprawie doktorskiej zawierają cenne i nowe informacje na temat różnic w odpowiedzi i odporności badanych genotypów pszenicy twardej na zasolenie, skażenie kadmem oraz porażenie *Fusarium culmorum*. Pomimo szerokiego zakresu wykonanych analiz na poziomie metabolicznym i fizjologicznym możliwe było wyznaczenie jedynie pojedynczych parametrów mających potencjalne znaczenie w ocenie odporności analizowanych genotypów pszenicy twardej na badane czynniki stresowe i wyjaśnieniu podłoża jej zróżnicowania. Wyniki wskazują na dużą złożoność analizowanych odpowiedzi roślin, nasuwają wiele pytań stanowiących impuls do dalszych i pogłębionych badań. Wyniki badań zaprezentowane w publikacjach wchodzących w zakres recenzowanej rozprawy zostały już wcześniej poddane ocenie merytorycznej przez recenzentów odpowiednich dla danej dziedziny wiedzy, wyznaczonych przez komitety redakcyjne czasopism. Dlatego wszystkie uwagi i komentarze tu zamieszczone nie mają na celu ich podważenia, ale służą dodatkowemu wyjaśnieniu lub uzupełnieniu pewnych kwestii, czy też podjęciu dyskusji nad

niektórymi wartymi uwagi wątkami pracy. Nie umniejszają natomiast wysokiego poziomu badań i wartości uzyskanych wyników.

Podsumowanie

Przedstawioną do recenzji pracę doktorską, zważywszy na duży stopień trudności analizowanych zagadnień, znaczący zakres badań, uzyskane oryginalne wyniki oraz ich opublikowanie w prestiżowych czasopismach naukowych oceniam pozytywnie. Podjęta tematyka jest bardzo aktualna. Uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa jest dobrym opracowaniem naukowym, wnoszącym nowe i istotne wyniki do badań z zakresu reagowania pszenicy twardej na stresy środowiskowe. Stwierdzam, że treść i forma przedstawionej rozprawy pt. „Tolerancja wybranych form pszenicy twardej (*Triticum durum* Def.) na zasolenie gleby, jony kadmu oraz porażenie *Fusarium culmorum*” spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami). W związku z powyższym, wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie jej Autora – mgr-a inż. Jakuba Pastuszaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

