

Marian Saniewski
ul. Szarych Szeregów 15
96-100 Skierniewice

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Katarzyny Możdżeń pt. „Wpływ składu spektralnego światła na wybrane procesy fizjologiczne mchów w warunkach stresu ozonowego”, wykonanej pod kierunkiem Prof. dr hab. Andrzeja Skoczowskiego z Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

Rośliny są narażone na różnego rodzaju stresy abiotyczne, takie jak deficyt lub nadmiar wody, zasolenie podłoża, stres termiczny, uszkodzenia mechaniczne, podwyższone natężenie promieniowania ultrafioletowego (UV), niedobór lub nadmiar składników mineralnych, zwłaszcza azotu, zanieczyszczenia metalami ciężkimi (ołów, kadm, miedź, nikiel, rtęć), zanieczyszczenia różnego rodzaju ksenobiotykami, niskie lub zbyt wysokie natężenie promieniowania świetlnego w zakresie promieniowania fotosyntetycznie czynnego (PAR), zbyt wysokie stężenie ozonu i inne. Stresy biotyczne to stresy powodowane przez patogeny (bakterie i grzyby) i żerowanie owadów. Rośliny reagują na stresy abiotyczne i biotyczne zmianami metabolicznymi w zależności od rodzaju stresu i gatunku rośliny, następuje uruchamianie lub wzmożona aktywność różnych metabolicznych systemów obronnych.

Wielokierunkowe badania nad reakcjami metabolicznymi u różnych gatunków mchów pod wpływem stresów abiotycznych są prowadzone od wielu lat w Zakładzie Fizjologii Roślin Uniwersytetu Pedagogicznego (poprzednio Akademii Pedagogicznej) w Krakowie.

Mgr Katarzyna Możdżeń została włączona do realizacji tej problematyki w Zakładzie Fizjologii Roślin Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie i pod kierunkiem Prof. dr hab. Andrzeja Skoczowskiego podjęła badania nad wpływem składu spektralnego światła na niektóre procesy fizjologiczne mchów w warunkach stresu ozonowego. Należy zaznaczyć, że ekofizjologiczne aspekty reakcji mchów na abiotyczne czynniki stresowe są prowadzone w wąskim zakresie w porównaniu do tego typu badań na roślinach wyższych. Czynniki stresowe środowiska poprzez zakłócenie procesów fizjologicznych i biochemicznych powodują negatywny wpływ na wzrost i rozwój roślin, taki też wpływ ma wysokie stężenie ozonu w troposferze.

We Wstępie pracy, liczącym 29 stron, omówiono przyczyny nagromadzenia się podwyższonego poziomu ozonu w troposferze i jego szkodliwe działanie na wzrost i rozwój roślin poprzez zaburzenia wielu procesów fizjologicznych i biochemicznych oraz mechanizmy obronne roślin na stresy środowiskowe. Następnie przedstawiono skład spektralny światła słonecznego oraz strukturę i mechanizm działania receptorów światła czerwonego, dalekiej czerwieni i światła niebieskiego. Z kolei omówiono ogólną charakterystykę mchów (budowa morfologiczna i anatomiczna, cykl życiowy) i systematykę, i szczegółową charakterystykę gatunków będących przedmiotem badań, tj. *Plagiomnium cuspidatum*, *Polytrichastrum formosum* i *Pleurozium schreberi*. W ostatnim fragmencie Wstępu Autorka wiele uwagi poświęciła ogólnej charakterystyce, w ujęciu przeglądowym, metodom analizy instrumentalnej wykorzystanym we własnych badaniach dotyczących odpowiedzi mchów na działanie ozonu w zróżnicowanym składzie spektralnym światła, dotyczy to parametrów kinetyki fluorescencji chlorofilu „a” stosowanych do oceny sprawności fotochemicznej PSII i zastosowania tej metody do oceny różnych procesów w fizjologii roślin, spektrofluorometrii, oznaczania zawartości chlorofilu i flawonoidów, metodzie kalorymetrii izotermicznej i konduktometrycznej ocenie stanu fizjologicznego roślin.

Przegląd literatury został właściwie opracowany i ma ścisły związek z podjętymi badaniami przez Autorkę.

Celem podjętych badań było poznanie oddziaływania różnego składu spektralnego światła na wzrost i rozwój, i niektóre procesy fizjologiczne i biochemiczne u 3 gatunków mchów, *Plagiomnium cuspidatum*, *Polytrichastrum formosum* i *Pleurozium schreberi*, w warunkach stresu ozonowego. W tym układzie doświadczalnym analizowano morfologię mchów, zawartość świeżej i suchej masy, przepuszczalność membran plazmatycznych w gametoforach, zawartość chlorofilu i flawonoidów, sprawność fotochemiczną PSII, widma emisji fluorescencji mchów przy użyciu spektrofluorymetru, intensywność procesów metabolicznych metodą kalorymetrii izotermicznej i aktywność enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego (dysmutazy nadadtlenkowej). Cel pracy jest wnikliwie i przejrzysto opisany.

Do zrealizowania podjętych badań konieczne było opracowanie odpowiednich układów doświadczalnych (m.in. aklimatyzacja roślin, fumigacja ozonem) i opanowanie oraz zaadoptowanie wielu różnych metod i technik analitycznych z zakresu fizjologii i biochemii, wspomnianych powyżej.

Wszystkie zastosowane metody i techniki doświadczalne zostały szczegółowo opisane w rozdziale Materiał i metody i w podrozdziale 1.7 „Metody analizy instrumentalnej wykorzystane w odpowiedzi mchów na działanie ozonu w zróżnicowanym składzie spektralnym światła” zamieszczonym we Wstępie pracy.

Wyniki badań opracowano statystycznie stosując wieloczynnikowy test ANOVA/MANOVA, a różnice między średnimi analizowano na podstawie wielokrotnego testu Duncana.

Wykazano, że ozon spowalnia wzrost chwytników i hamuje wzrost gametoforów i gametofitów badanych gatunków mchów, ale powoduje przyrost świeżej masy gametoforów poprzez zwiększone uwodnienie, niezależnie od składu spektralnego światła. Ozon w niewielkim stopniu wpływał na przepuszczalność membran plazmatycznych w komórkach gametoforów u wszystkich 3 badanych gatunków mchów, ale tylko światło czerwono-zielono-niebieskie powodowało duży wzrost przepuszczalności membran u *Pleurozium schreberi* w porównaniu ze światłem białym.

Stres ozonowy doprowadzał do wzrostu zawartości chlorofilu w gametoforach badanych gatunków mchów, a szczególnie w warunkach światła białego, natomiast tylko w przypadku gametoforów *Plagiomnium cuspidatum* ozon powodował wzrost zawartości flawonoidów, niezależnie od składu spektralnego światła.

Sprawność aparatu fotosyntetycznego (wydajność fotochemiczną PSII) w gametoforach badanych gatunków mchów analizowano poprzez pomiar kilku parametrów fluorescencji chlorofilu „a”, tj. pomiar fluorescencji zerowej roślin zaadaptowanych do ciemności - F_0 , fluorescencję maksymalną wyznaczoną po adaptacji ciemniowej - F_m , fluorescencję stacjonarną - F_t , maksymalną fotochemiczną wydajność PSII - F_v/F_m , wskaźnik witalności PSII - Rfd, wskaźnik wygaszania niefotochemicznego - NPQ, wygaszanie fotochemiczne – Qp i wydajność reakcji fotochemicznej w PSII - QY. Analiza wyników tych parametrów kinetyki fluorescencji chlorofilu „a” wykazała, że ozon doprowadza do obniżenia sprawności aparatu fotosyntetycznego u badanych gatunków mchów, niezależnie od barwy światła.

Wykazano, że kalorymetria izotermiczna może mieć zastosowanie do pomiaru ogólnej aktywności metabolicznej mchów, skład spektralny światła oddziaływał na wartości wpływu ciepła, w zależności od badanego gatunku i traktowania ozonem.

Pomiary widm niebiesko-zielonej i czerwonej fluorescencji badanych gatunków mchów wykazały podobny kształt widm, a traktowanie ozonem i skład spektralny światła wpływały na intensywność fluorescencji.

Opracowano wskaźnik indeksu azotowego (NBI), jest on najwyższy u mchów *Plagiomnium cuspidatum* i *Polytrichastrum formosum* traktowanych ozonem na świetle białym.

Ogólnie uważa się, że ozon zwiększa aktywność systemu antoksydacyjnego, zwłaszcza poprzez wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej. Autorka wykazała, że w gametoforach *Plagiomnium cuspidatum* występują dwie izoformy dysmutazy ponadtlenkowej: Cu/ZnSOD i MnSOD, a aktywność tych izoform była w niewielkim stopniu zależna od warunków świetlnych i od traktowania ozonem.

Dobrze zdefiniowany cel pracy został w pełni zrealizowany, a otrzymane wyniki wnoszą nowe wartości do naszej wiedzy o wpływie ozonu i warunków świetlnych na wzrost, rozwój i metabolizm badanych trzech gatunków mchów. Zakres badań przedstawiony w pracy doktorskiej mgr K. Możdżeń jest duży, a trzeba dodać, że obiekt badań nie jest łatwy do eksperymentowania. Wyniki badań zostały starannie udokumentowane, przedyskutowane i zinterpretowane w rozdziale Dyskusja. Autorka sformułowała 12 wniosków, niektóre są zbyt ogólne, wnioski 5 i 8. Poszczególne badane gatunki mchów różnie reagują na te same czynniki stresowe, w tym przypadku na traktowanie ozonem w warunkach zróżnicowanego składu spektralnego światła. Może to zależeć od budowy anatomiczno-morfologicznej i środowiska występowania jak sugeruje Doktorantka. Dane literaturowe przedstawione we Wstępie i Dyskusji mogą stanowić doskonały materiał do opracowania pracy przeglądowej. Wzorowe opracowanie rozprawy od strony merytorycznej, należyte wykorzystanie literatury z tego zakresu świadczy o bardzo dobrej znajomości podjętej tematyki. Również pod względem redakcyjnym cała praca jest starannie przygotowana. Po spisie treści podany jest Wykaz stosowanych skrótów i kolejno, Wstęp, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Bibliografia (341 pozycji), Spis tabel, Spis rycin, Streszczenie i Abstract.

Nasuwać się też pewne sugestie i drobne uwagi do pracy typu redakcyjnego:

- Moim zdaniem podrozdział 1.7 „Metody analizy instrumentalnej wykorzystane w odpowiedzi na działanie ozonu w zróżnicowanym składzie spektralnym światła” (str. 28-35) nie powinien znaleźć się we Wstępie, ale w rozdziale Materiał i metody, w połączeniu z odpowiednimi podrozdziałami.
- Lepiej byłoby aby zamieszczone zdjęcia badanych gatunków mchów były oryginalne.

- Wniosek 5 „Ozon, niezależnie od składu spektralnego światła, zwiększa zawartość Flv w gametoforach mchów”, jest zbyt uogólniony, bo tylko *Plagiomnium cuspidatum* reaguje zwiększoną zawartością flawonoidów na traktowanie ozonem.

- Bibliografia; poz. 194, 217, 252, 253 – powinno być *Acta Physiologiae Plantarum* (jest ...*Physiologia* ...).

Uważam, że przedstawiona praca doktorska mgr Katarzyny Możdżeń w pełni odpowiada warunkom stawianym rozprawom doktorskim i zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Geograficzno-Biologicznego Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie o przyjęcie pracy i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Skierniewice, 02. 08. 2016 r.


Prof. dr hab. Marian Saniewski
Czł. rzecz. PAN