

dr hab. Hazem Kalaji, prof. SGGW
Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Rolnictwa i Biologii
SGGW w Warszawie
e-mail: hazem@kalaji.pl

Warszawa, 15 lipca 2019 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pana mgr Jakuba Oliwy pod tytułem

„Ontogeneza oraz odpowiedź liści sporotrofofilowych i okrywowych *Platycerium bifurcatum* (Cav.) C. Chr. na stres świetlny i ozonowy”

Przesłana do recenzji praca została wykonana na Wydziale Geograficzno – Biologicznym Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej, pod kierunkiem Prof. dr hab. Andrzeja M. Skoczowskiego. Została ona przygotowana i przedstawiona do oceny na podstawie pięciu artykułów, które stanowią integralną część rozprawy. Trzy artykuły już zostały opublikowane w czasopismach posiadających współczynnik wpływu (impact factor - IF), jeden jest przyjęty do druku, a jeden jest w recenzjach. Są to następujące prace:

- Oliwa J., Kornas A., Skoczowski A. 2016. Morphogenesis of sporotrophophyll leaves in *Platycerium bifurcatum* depends on the red/far-red ratio in the light spectrum. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 247.

25 punktów MNiSW, IF: 1,691

- Oliwa J., Kornas A., Skoczowski A. 2017. A low ratio of red/far-red in the light spectrum accelerates senescence in nest leaves of *Platycerium bifurcatum*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 59: 67-80.

20 punktów MNiSW, IF: 0,928

- Oliwa J., Skoczowski A. 2019. Different response of photosynthetic apparatus to high light stress in sporotrophophyll and nest leaves of *Platycerium bifurcatum*. *Photosynthetica* 57:147-159.

25 punktów MNiSW, IF: 1,74

- Oliwa J., Skoczowski A. 2019. The high red/far-red ratio supports the acclimation of fern *Platycerium bifurcatum* to high-light. *Biologia Futura* 70(2) - przyjęty do druku

15 punktów MNiSW, IF: 0,439



- Oliwa J., Stawoska I., Janeczko A., Oklestkova J., Skoczowski A. Response of the photosynthetic apparatus in tropical fern *Platycerium bifurcatum* to increased ozone concentration. Photosynthetica - w recenzji.

Doktorant załączył także oświadczenia wszystkich współautorów artykułów. Udział Doktoranta w tych pracach wynosił od 75 % do 95 % (średnio 84 %). Należy więc stwierdzić, że udział Doktoranta w nich jest znaczący i upoważnia go do wykorzystania ich jako podstawy do nadania stopnia doktora.

Dokumentacja pracy została dostarczona w oprawionej formie i obejmuje m.in.:

1. Tło badań: charakterystyka gatunku, stan wiedzy o wpływie stresu świetlnego i zanieczyszczenia ozonem,
2. Cele pracy,
3. Materiał roślinny i zastosowane metody,
4. Omówienie otrzymanych wyników,
5. Główne wnioski,
6. Literatura cytowana w streszczeniu
7. Publikacje oraz manuskrypty wchodzące w skład rozprawy doktorskiej

Praca doktorska Pana mgr Jakuba Oliwy. Treść pracy, cele, zastosowane metody i konstrukcja ocenianej pracy jest zgodna z wymaganiami stawianymi pracom doktorskim i przyjętymi zasadami stosowanymi w naukach biologicznych i przyrodniczych. Główna tematyka pracy dotyczy przebiegu procesu fotosyntezy, fundamentalnego w biologii roślin naczyniowych. Tematyka ta w pełni wpisuje się w kierunek badawczy i zainteresowania naukowe całego zespołu badawczego, w którym Doktorant wykonywał pracę (Zakład Fizjologii Roślin Instytutu Biologii). Zespół ten od wielu już lat prowadzi badania nad przebiegiem procesu fotosyntezy, a w szczególności wykorzystaniem różnych metod do oceny wpływu czynników stresowych na przebieg tego procesu (m.in. fluorescencji chlorofilu *a* i pomiaru wymiany gazowej). Daje to gwarancję należytego przygotowania merytorycznego Doktoranta.



W rozdziale zatytułowanym „Tło badań” Doktorant przedstawił problematykę podjętych badań w świetle obecnego stanu wiedzy. Autor opisuje obecny stan wiedzy dotyczący paproci *Platycerium bifucatum* Cav. (C. Chr.), w szczególności jej cechy morfologiczne i fizjologiczne. Doktorant wykazał celowość wyboru akurat tego gatunku, jako przedmiotu badań. Wybór ten wynikał z faktu, że paproć ta cechuje się bardzo rzadko uwzględnianą w badaniach ekofizjologicznych heterofilią. Dzięki występowaniu tej cechy roślina ma możliwość translokacji substancji chemicznych z liści odkrywkowych do sporotrofofilowych w fazie zaniku funkcji fotosyntetycznych tych pierwszych.

Opisane jest także środowisko, w którym ta roślina występuje. W szczególności dokładnie zostały opisane warunki świetlne panujące w lasach tropikalnych i ich wpływ na ontogenezę sporofitu *P. bifurcatum*, a także jej zdolności aklimatyzacyjne w warunkach tego stresu. W ostatnim podrozdziale Doktorant omówił wyczerpująco problemy związane z zanieczyszczeniem ozonem w lasach tropikalnych. Należy zauważyć, że Doktorant przy omawianiu każdego z tych zagadnień wskazuje na aspekty, które jeszcze nie zostały poruszone podczas dotychczasowych badań. Zauważył na przykład, że niewiele wiadomo o mechanizmach fizjologicznych, które umożliwiły by paprociom epifitycznym radzenie sobie z nadmiarem światła (np. po wycięciu wyższych drzew), oraz że jest niewiele doniesień o wpływie ozonu na te rośliny.

W podrozdziale zatytułowanym "Cele rozprawy doktorskiej" Doktorant zaprezentował główne założenia pracy, której ogólnym celem było poznanie odpowiedzi aparatu fotosyntetycznego dwóch typów liści tropikalnej paproci *Platycerium bifucatum* w warunkach stresu abiotycznego oraz ocena wpływu wartości stosunku czerwień/daleka czerwień (R/FR) na przebieg ontogenezy sporotrofofili i liści okrywowych. Postawiono także 8 celów szczegółowych. W odczuciu Recenzenta zarówno cel ogólny, jak i cele szczegółowe pracy zostały postawione prawidłowo. Po prawidłowo poprowadzonym „przeglądzie literatury” nie ma najmniejszych wątpliwości, że postawione w pracy cele są zasadne. Za uchybienie należy jednak uznać, że nie postawiono hipotezy pracy.

W rozdziale „Materiał roślinny i zastosowane metody” Doktorant podaje informacje o pochodzeniu roślin wykorzystanych do badań i ich wiek. Zostały także bardzo szczegółowo omówione metody stosowane w przeprowadzonych pomiarach i analizach. Należy jednak zauważyć, że same warunki doświadczenia mogłyby być doprecyzowane. Nie podano, gdzie eksperyment miał miejsce (fitotron, szklarnia, a może hala wegetacyjna?), nie podano na



jakim podłożu te rośliny rosły itd. Informacje te co prawda zostały podane w poszczególnych artykułach, ale warto by je było także umieścić w samej rozprawie.

Szczególnie dużo uwagi poświęcono pomiarom fluorescencji chlorofilu *a*, które od kilkunastu lat są powszechnie wykorzystywane do oceny wpływu czynników stresowych na fotosyntezę. Jest to metoda pomiarowa uznawana za prostą, tanią i szybką, a co najważniejsze – pomiary są wykonywane przeżyciowo. Dzięki temu istnieje możliwość wykonywania kolejnych pomiarów na tych samych liściach bez generowania dodatkowego stresu, co Doktorant w swoich badaniach wykorzystał. Jest to technika wykorzystywana zarówno w naukach biologicznych, jak i rolniczych czy w inżynierii środowiska. Pomiar fluorescencji bezpośredniej (PF ang. *Prompt Fluorescence*), pozwala na określenie potencjalnej wydajności aparatu fotosyntetycznego, budowy kompleksów białkowo-barwnikowych, aktywności fotoukładu II, poziomu redukcji akceptorów układu PSI oraz zaabsorbowanej energii fotonów. Zrozumienie zjawiska fluorescencji chlorofilu *a* pozwala na uzyskanie informacji o kondycji aparatu fotosyntetycznego. Na podstawie pomiarów fluorescencji chlorofilu możliwe jest również wnioskowanie o zaistniałych zaburzeniach funkcjonowania aparatu fotosyntetycznego na skutek oddziaływania danego stresora, ponieważ reaguje nawet na najmniejsze zmiany w warunkach wzrostu rośliny. Pomiar fluorescencji chlorofilu *a* pozwala nie tylko badać przebieg reakcji fazy fotosyntezy zależnej od światła, ale też pozwala na pośrednie określenie zawartości chlorofilu w tkankach.

Doktorant, w ramach wykonywania pracy doktorskiej, do opisu stanu bioenergetycznego rośliny posługiwał się głównie testem JIP (w pracy nieprawidłowo nazwanym testem OJIP – ta nazwa jest zarezerwowana dla krzywych indukcji fluorescencji), który jest matematycznym modelem transportu elektronów przez kolejne elementy łańcucha oksydacyjno – redukcyjnego, opisuje też komunikację pomiędzy poszczególnymi jednostkami fotoukładu II (PSII). Doktorant podaje, że parametry kinetyki fluorescencji chlorofilu zostały określone według metody Strassera i in. (2000), jednak nie podaje, na podstawie jakich wzorów zostały obliczone krzywe zmian kinetyki wzrostu fluorescencji (ΔV_t).

Bardzo ciekawą techniką zastosowaną przez Doktoranta była opracowana przez Lichtenthalera i in. (2004) spektrofluorymetria. Jest to pomiar intensywności fluorescencji chlorofilu przy poszczególnych długościach fali. Samo promieniowanie jest wzbudzane za pomocą promieniowania UV, które wywołuje zarówno fluorescencję chlorofilu w zakresie czerwieni i dalekiej czerwieni, jak i fluorescencję związków fenolowych zawartych w ścianie



komórki (zakres niebiesko – zielony). Na podstawie stosunku intensywności fluorescencji w zakresie niebieskim do fluorescencji w zakresie czerwieni i dalekiej podczerwieni Doktorant wnioskował o wrażliwości roślin paproci na zadane stresy.

W ramach ocenianej pracy zostały także wykonane pomiary wymiany gazowej liści. Jest to metoda szeroko stosowana do oceny intensywności fotosyntezy netto – zarówno w badaniach biologicznych, ekofizjologicznych, rolnictwie i ogrodnictwie czy w inżynierii środowiska. Mierzonymi parametrami były fotosynteza netto (P_n), przewodność szparkowa i współczynnik transpiracji. Doktorant bardzo szczegółowo opisał metodykę tych pomiarów. Wątpliwości może jedynie budzić fakt pominięcia dość istotnych parametrów: międzykomórkowego stężenia CO_2 i efektywności wykorzystania wody (ang. *Water Use Efficiency – WUE*).

W ramach ocenianej pracy przeprowadzono też analizę zawartości barwników fotosyntetycznych. Wykonano m.in.: pomiary refleksji promieniowania świetlnego od liści, dzięki czemu możliwe stało się oszacowanie ilości antocyjanów, karotenoidów, flawonoidów, czy stosunku stężenia karotenoidów względem chlorofilu. Oszacowano także stopień uwodnienia tkanki liścia i indeks wydajności fotochemicznej. Doktorant określił także zawartość chlorofilów za pomocą dwóch niezależnych metod: przeżyciowo za pomocą chlorofilomierza SPAD-Minolta i metodą destrukcyjną.

W rozdziale „Wyniki” Doktorant wykazał, że założony cel badań był konsekwentnie realizowany. Dołączona dokumentacja, którą Doktorant tu prezentuje, jest starannie przygotowana, a stosowane w badaniach metody statystyczne prawidłowe. Ten rozdział rozprawy Doktorant podzielił na 5 podrozdziałów, w których omawia wyniki 5 publikacji.

Doktorant stwierdził, że liście sporotrofofilowe paproci *P. bifurcatum* wykazywały się istotnymi różnicami zarówno w rozwoju ontogenetycznym, jak i odpowiedzi aparatu fotosyntetycznego na zadane czynniki abiotyczne (intensywność i skład spektralny światła oraz podwyższone stężenie ozonu) w porównaniu do liści okrywowych. Doktorant stwierdził, że skład spektralny światła regulował tempo morfogenezy i starzenia się liści sporotrofofilowych i obniżał wydajność energetyczną ich fotosystemu II, ale przyczynił się też do starzenia liści okrywowych. Doktorant zauważył, że wzrost sporofitów przy niskiej intensywności światła, ale wysokiej wartości stosunku R/FR umożliwia ich aklimatyzację do stresu świetlnego, co Doktorant tłumaczy wzmożonym wytwarzaniem związków o charakterze fotoprotekcyjnym, co chroni roślinę przed fotoinhibicją. Stwierdzono także

wysoką odporność sporotrofofili na oddziaływanie ozonu. Zauważono, że pod wpływem tego czynnika jedynie współczynnik transpiracji się istotnie obniżył.

Opisane powyżej wyniki zostały przez Doktoranta podsumowane w postaci dobrze udokumentowanych wniosków, które w pełni odpowiadają na postawione cele pracy. Przy sformułowaniu tych wniosków Doktorant wykazał się zarówno krytycyzmem, jak i należyłą ostrożnością.

Manuskrypt pracy doktorskiej pana mgr Jakuba Oliwy został pod względem edytorskim poprawnie i starannie opracowany, a pod względem formalnym i merytorycznym spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Jak nadmieniono we wstępie niniejszej recenzji - integralną częścią rozprawy jest 5 artykułów, 4 opublikowane w wysoko punktowanych czasopismach naukowych i na pewno były recenzowane przez wysokiej klasy specjalistów oraz jedna praca będąca w trakcie oceny w czasopiśmie *Photosynthetica*, także wysoko punktowanym. W mojej ocenie przedstawiony do recenzji materiał pod względem formalnym i merytorycznym spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Rozprawa doktorska pana mgr Jakuba Oliwy wnosi nowe elementy poznawcze i użyteczne wzbogacające wiedzę w zakresie znaczenia i roli stresu świetlnego i zanieczyszczenia ozonem w procesach fizjologicznych. Jest przykładem zamkniętego cyklu badawczego od koncepcji przez staranny dobór materiału roślinnego, właściwe metody oraz przedyskutowaniu wyników własnych i ich konfrontację z poglądami innych autorów.

Konkluzja

Rozprawa doktorska Pana mgr Jakuba Oliwy jest dojrzałym opracowaniem naukowym opartym o wieloaspektowe badania, w którym dane zebrano i opracowano przy zastosowaniu najnowszych metod. Praca ta ma wiele do zaoferowania pod względem poznawczym i praktycznym. Zebrany materiał i jego krytyczne omówienie dowodzi biegłej umiejętności Doktoranta w stosowaniu różnorodnych metod badawczych oraz metod statystycznych i numerycznych. Autor wykazał się wiedzą merytoryczną przy sformułowaniu celów oraz dobrą znajomością literatury fachowej. Nie ma najmniejszych wątpliwości, że Doktorant jest zdolnym i samodzielnym pracownikiem naukowym, a badania przez niego wykonane są na poziomie nieodbiegającym od aktualnych standardów europejskich.



Zebrano wartościowy i obszerny materiał dokumentacyjny oraz merytoryczny. Praca doktorska Pana mgr Jakuba Oliwy spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z Ustawą z 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. Ust. 2003, 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami). **Mając na względzie moją wysoką ocenę przedkładam Radzie Wydziału Geograficzno – Biologicznego Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej wniosek o dopuszczenie Pana mgr Jakuba Oliwy do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy stosowną nagrodą.**

Warszawa, 15 lipca 2019

Harek Ułaj