

Poznań, 16 września 2016 r.

Prof. dr hab. Piotr Goliński, prof. zw.
Katedra Łąkarstwa i Krajobrazu Przyrodniczego
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

RECENZJA

pracy doktorskiej **mgr inż. Anny Fariaszewskiej**
pt.: „The effect of drought stress on yield, physiological processes and chemical composition of forage grasses of *Lolium*, *Festuca* and *Festulolium*”
 („Wpływ stresu suszy na plonowanie, przebieg procesów fizjologicznych oraz skład chemiczny traw pastewnych z rodzajów *Lolium*, *Festuca* i *Festulolium*”),
wykonana na prośbę Przewodniczącego Rady Naukowej IUNG-PIB –
prof. dr hab. Jana Kusia, prof. zw. (pismo RN-115/2016 z dnia 11.07.2016)

I. Ocena problematyki badawczej.

W grupie czynników klimatycznych kształtujących potencjał plonotwórczy siedliska jednym z najważniejszych, obok światła i temperatury powietrza, jest ilość i rozkład opadów. Decydują one o uwilgotnieniu gleby, które wraz z zaopatrzeniem roślin w składniki pokarmowe, są najważniejszym czynnikiem produktywności użytków zielonych. Podstawowa grupa roślin łąkowych, czyli trawy pastewne, zaliczane są do roślin niezbyt oszczędnie gospodarujących wodą. Nie dziwi więc fakt, że trwałe użytki zielone położone są najczęściej w dolinach rzecznych, obniżeniach śródpolnych oraz w rejonach z większą ilością opadów.

Ilość i rozkład opadów atmosferycznych w największym stopniu wpływają na uwilgotnienie gleb łąk i pastwisk w siedliskach łąkowych. Także w przypadku produkcji pasz na gruntach ornych w formie przemiennych użytków zielonych problem deficytu wody w glebie w ostatnich latach nasila się. Należy podkreślić, że oprócz ilości jeszcze ważniejszy jest rozkład opadów atmosferycznych w sezonie wegetacyjnym, zwłaszcza latem, gdy potrzeby wodne roślin łąkowych, w tym szczególnie traw pastewnych, są bardzo duże z racji wzmożonej transpiracji. Dostępność wody w okresach krytycznych dla wzrostu i rozwoju traw pastewnych umożliwia systematyczne odrastanie runi i wpływa na równomierną podaż paszy w gospodarstwie. Niestety, pojawiające się w ostatnich latach okresy suszy glebowej, nie tylko latem, ale również wiosną i jesienią stanowią poważny problem w organizacji bazy paszowej w gospodarstwach ukierunkowanych na chów przeżuwaczy.

W tym kontekście niezwykle ważne jest poznanie reakcji różnych gatunków i odmian traw, wykorzystywanych w produkcji pasz na gruntach ornych w siewie czystym lub w mieszkankach, na stres suszy. Praca doktorska mgr inż. Anny Fariaszewskiej wychodzi naprzeciw temu zapotrzebowaniu. W dostępnej literaturze przedmiotu istnieje szereg opublikowanych prac z zakresu wpływu niedoboru wody na wybrane elementy wzrostu

i rozwoju niektórych traw pastewnych. Jednak ocenianą pracę wyróżnia zakres podjętych przez Doktorantkę badań, w odniesieniu do obiektów oraz kryteriów oceny. Problematykę badawczą w prezentowanej dysertacji uznaję za wysoce interesującą w aspekcie poznawczym i utylitarnym, pozytywnie oceniając trafność i aktualność wyboru tematu.

II. Ocena układu pracy.

Przekazana do recenzji praca napisana jest w języku angielskim w liczbie 138 stron wypełnionych tekstem i materiałem wynikowym w postaci 30 tabel i 51 rycin. Została przygotowana według układu przewidzianego dla dysertacji doktorskich. Układ ten jest przejrzysty, a forma pracy sprawia bardzo dobre wrażenie. Na początku pracy Autorka zamieściła wykaz używanych w pracy skrótów i ich objaśnienia, co ułatwia lekturę dysertacji. Następnie zostały zawarte w pracy wykazy rycin i tabel, a także spis treści. Rozdziałami stanowiącymi trzon pracy są wstęp, hipotezy i cele badań, przegląd literatury, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski i literatura. Autorka wydzieliła w pracy wiele podrozdziałów, w części wynikowej nawet 4-rzędu, ułatwiających czytelnikowi orientację w treści i bogatym materiale wynikowym. W końcowej części pracy zostało zamieszczone 3-stronicowe streszczenie w języku polskim.

Wykaz źródeł literaturowych obejmujący 240 pozycji uznaję za wiarygodny dowód przygotowania Autorki do podjęcia prac badawczych. Ten imponujący zestaw prac opublikowanych w czasopismach naukowych, w formie rozdziałów w monografiach, materiałach konferencyjnych, raportach publikowanych on-line, itd., łącznie na 19 stronach maszynopisu został przygotowany w języku angielskim, mimo że 22 prace w oryginale są opublikowane w języku polskim. Przyjęta przez Doktorantkę formuła spisu bibliografii jest dopuszczalna, jednak w mojej ocenie za źródłem w języku polskim wykazany w języku angielskim powinno być stwierdzenie [in Polish]. Niezależnie od tej uwagi, na uznanie zasługuje szerokie korzystanie z piśmiennictwa w języku kongresowym.

III. Ocena merytoryczna pracy.

We „Wstępie” pracy Autorka przedstawiła kwestie dotyczące zasobów i obiegu wody na kuli ziemskiej, znaczenie i zapotrzebowanie wody pitnej dla ludzkości, występowanie suszy w Europie i problemy z tym związane, wpływ suszy na rolnictwo, rodzaje suszy, a także znaczenie traw w produkcji pasz i ich reakcję na niedobory wody w glebie. W mojej ocenie kontekst problemu badawczego, który jest istotą wprowadzenia do dysertacji doktorskiej, jest zbyt szeroki, a akcenty podejmowanej problematyki rozłożone nierównomiernie. Doktorantka przeznaczyła w tym rozdziale na szeroki kontekst tematu pracy ponad 3 strony, w tym ciekawe

ryciny 1 i 2, a na zagadnienia związane bezpośrednio z problemem badawczym w pracy tylko 0,5 strony.

Rozdziałem nr 2 w pracy są „Hipotezy badawcze i cele pracy”. Ta część jest bardzo zwięzła. W mojej ocenie trzy podane hipotezy powinny być lepiej uwypuklone. Z kolei cztery cele pracy są bardzo konkretne i wypunktowane. W tym miejscu wyróżnia się termin „mild drought stress” – umiarkowanego stresu suszy, który dla czytelnika pozostaje zagadką, gdyż dopiero w dalszej części pracy (w dyskusji, str. 100) można doszukać się, co on oznacza. W mojej opinii zdefiniowanie tego pojęcia w celu pracy lub wcześniej we wstępie byłoby konieczne.

Kolejnym rozdziałem w pracy jest przegląd literatury. Autorka przedstawiła w nim szeroki przegląd źródeł literaturowych dotyczących zagadnień związanych z podmiotem i przedmiotem pracy, a więc występowaniem i znaczeniem traw, zwłaszcza strefy klimatu umiarkowanego, w tym gatunków z kompleksu *Lolium-Festuca*, następnie wpływu biotycznych i abiotycznych stresów w uprawach rolniczych na wzrost i rozwój roślin oraz kształtowanie się plonu. Szczególną uwagę mgr inż. Anna Fariaszewska zwróciła na pozycje bibliograficzne, które dotyczą reakcji roślin uprawnych na stres suszy w aspekcie cech morfologiczno-biologicznych, procesów fizjologicznych, w tym fotosyntezy, oddychania, efektywności wykorzystania wody i innych, odporności roślin na warunki stresowe, plonowania i jakości plonu. Zasadniczo przedstawiony przegląd literatury oceniam pozytywnie, jednak uważam, że dobór źródeł powinien być bardziej dopasowany do tematu podejmowanego w pracy doktorskiej. Większość cytowanych prac dotyczy bowiem reakcji zbóż, roślin bobowatych i taksonów z innych roślin botanicznych na stres suszy, a nie traw pastewnych.

W rozdziale „Materiał i metody” Autorka scharakteryzowała doświadczenie wazonowe przeprowadzone w szklarni IUNG-PIB w Puławach i polowe – na polu doświadczalnym ILVO w Melle (Belgia) wraz z dokumentacją zdjęciową, warunki pogodowe w okresie prowadzenia badań polowych oraz zakres badań z prezentacją metod badawczych w odniesieniu do analizowanych parametrów. W obydwu doświadczeniach Autorka testowała dziewięć odmian traw pastewnych, należących do pięciu gatunków: *Lolium perenne*, *Lolium multiflorum*, *Festuca pratensis*, *Festuca arundinacea* oraz *Festulolium braunii*. Wykorzystanie w badaniach wazonowych i polowych tych samych obiektów należy uznać za prawidłowe podejście w rozwiązywaniu podjętego problemu badawczego. W tym miejscu oczekiwałbym komentarza w pracy, co do kryteriów wyboru odmian hodowlanych, poza poziomem ploidalności. W doświadczeniu wazonowym przeprowadzonym w 2013 roku w układzie kompletnie zrandomizowanym Autorka zastosowała dwa poziomy wilgotności gleby: 70% ppw (optymalna) i 40% ppw (deficyt wody skutkujący stresem suszy), przy czym stres suszy wywoływała trzy tygodnie przed zbiorem, niezależnie, pierwszego, drugiego i trzeciego

odrostu, porównując jego efekty do poziomu wilgotności optymalnej przez cały okres wegetacji. Przyjęty schemat doświadczenia Autorka zobrazowała graficznie na rycinie 4, błędnie zaznaczając w grupie III i IV terminy pomiarów fizjologicznych. Doświadczenie polowe realizowano w latach 2014-2015 w układzie losowanych podbloków, testując reakcję wybranych odmian traw pastewnych na stres suszy w trzecim odroście (pod ruchomymi osłonami przeciwdeszczowymi z systemem zraszaczy) poprzez utrzymanie wilgotności objętościowej gleby na poziomie nie niższym niż 7,5%, w porównaniu do wilgotności optymalnej, utrzymywanej na poziomie około 20%. Następnie Autorka wyczerpująco przedstawiła opis metod i procedur badawczych w odniesieniu do oceny plonu i zawartości suchej masy, parametrów wymiany gazowej i fluorescencji chlorofilu, zawartości proliny, flawonoidów, kwasów fenolowych oraz składu chemicznego runi. Małym mankamentem tej części pracy jest włączenie opisu pomiaru powierzchni liści do podrozdziału dotyczącego wskaźników wymiany gazowej. Oceniając założenia badawcze i opis metod dla wyjaśnienia przyjętego celu badań stwierdzam, że są one prawidłowe. Drobne uwagi, budzące pewne wątpliwości, dotyczą argumentów za przeprowadzeniem badań polowych w warunkach bardzo wysokiego poziomu nawożenia i proporcji zastosowanych składników NPK, odpowiednio, w 2014 roku 297, 18, 273 kg/ha i w 2015 roku 260, 23, 295 kg/ha w czystych składnikach. Ponadto w doświadczeniu wazonowym wskazane byłoby podanie zastosowanych dawek N, P, K, Mg w gramach na jednostkę powierzchni. Rozdział „Materiał i metody” kończy informacja o zastosowanych w rozprawie metodach i narzędziach statystycznych, które oceniam, jako prawidłowe w tego typu badaniach.

„Wyniki” badań Autorka zamieściła w dwóch częściach dotyczących doświadczenia wazonowego i polowego. Zostały one przedstawione w sposób uporządkowany i przejrzysty zgodnie z zakresem badań scharakteryzowanym w poprzednim rozdziale. Jednocześnie w mojej ocenie odznaczają się one dużą wartością poznawczą. Wynikające z danych empirycznych zależności są udokumentowane statystycznie. Autorka w swoich dociekaniach naukowych nie tylko potwierdziła wiele znanych z literatury zależności reakcji wybranych gatunków i odmian traw pastewnych na niedobór wody w glebie, ale wyjaśniła je poprzez analizę właściwości biologicznych, fizjologicznych i fitochemicznych roślin. Kompleksowość badań i przedstawionych wyników jest niewątpliwym atutem pracy.

W doświadczeniu wazonowym Autorka wykazała, że w warunkach stresu suszy plon suchej masy wszystkich gatunków i odmian traw zmniejszył się istotnie we wszystkich odrostach. Tą samą zależność udowodniono w warunkach doświadczenia polowego. Autorka wskazała także na zróżnicowanie reakcji gatunków i odmian w wykształcaniu plonu suchej masy na stres suszy w obydwu doświadczeniach. Pod wpływem tego stresu testowane trawy zwiększały zawartość suchej masy, przy czym odmiany diploidalne odznaczały się większym

jej gromadzeniem niż tetraploidalne. Wyniki badań nad wskaźnikami wymiany gazowej potwierdziły zależność zmniejszenia się intensywności fotosyntezy netto, intensywności transpiracji i przewodnictwa szparkowego w warunkach suszy, a zwiększania się efektywności wykorzystania wody (WUE). Doktorantka w każdym parametrze wskazała na zróżnicowaną reakcję traw pod wpływem suszy. Interesujące są wyniki wskaźników fluorescencji chlorofilu α pod wpływem suszy. Autorka udowodniła, że badane trawy w zróżnicowanym zakresie reagują zmniejszeniem indeksu witalności oraz maksymalnej wydajności kwantowej fotoukładu II na stres suszy. Innowacyjne w mojej ocenie są wyniki fizjologicznej reakcji traw na deficyt wody w glebie poprzez gromadzenie osmoprotektantów tj. prolina, flawonoidy i kwasy fenolowe. Doktorantka udowodniła ich zwiększone gromadzenie w warunkach suszy i wskazała na różnice w obrębie badanych taksonów. Przedstawione wyniki wskazują także na wpływ stresu suszy na skład chemiczny i strawność badanych traw. Autorka wykazała wpływ deficytu wody w glebie na istotne zmniejszenie zawartości w badanych taksonach ADF i NDF, a zwiększenie koncentracji węglowodanów rozpuszczalnych w wodzie. Na uznanie zasługuje analiza statystyczna wyników badań empirycznych. Autorka, oprócz prezentacji w każdej tabeli wyników dwuczynnikowej analizy wariancji i testu Tukey'a, dokonała syntetycznej analizy danych w formie obliczenia współczynników korelacji liniowej Pearsona, analizy regresji liniowej oraz analizy składowych głównych.

W prezentacji wyników badań Autorka nie ustrzegła się jednak pewnych niedociągnięć, czy też niedomówień interpretacyjnych, które budzą moje wątpliwości. Najważniejsze z nich podaję poniżej:

- W doświadczeniu wazonowym Doktorantka stosuje zamiennie terminy „cut” (odrost) i „period” (okres), co jest pewną niekonsekwencją. W mojej ocenie powinno się stosować konsekwentnie termin „odrost”, podobnie jak w doświadczeniu polowym, przynajmniej w dokumentacji wyników w tabelach i na rycinach.
- Jak wyjaśnić zmniejszenie się efektywności wykorzystania wody w odroście II doświadczenia wazonowego (tab. 6)? Zależność tę, odmienną od udowodnionego trendu w innych odrostach, wykazywały wszystkie badane trawy, za wyjątkiem odmiany Merifest Tp *Festuca pratensis*.
- Czy rzeczywiście w odroście pierwszym doświadczenia wazonowego maksymalna wydajność kwantowa fotoukładu II u traw w warunkach optymalnego uwilgotnienia i stresu suszy różni się istotnie na poziomie $P < 0,001$ (tab. 10)?
- Jak można zinterpretować brak dodatniej korelacji pomiędzy maksymalną wydajnością kwantową fotoukładu II, a intensywnością fotosyntezy netto w odroście III doświadczenia wazonowego (tab. 17)?

- Jak wyjaśnić, że odmiana Meltador *Lolium perenne* w warunkach doświadczenia polowego lepiej plonowała w 2014 roku (plon roczny) w warunkach suszy (tab. 21)? W mojej opinii Autorka popełniła błąd interpretacyjny komentując wyniki rocznego plonu suchej masy wszystkich odmian traw w 2014 roku w odniesieniu do czynnika uwilgotnienia gleby. Przecież stres suszy wprowadzono dopiero po zbiorze II odrostu. Tak więc, jak można badać efekt suszy dla pięciu odrostów? Ta sama uwaga dotyczy plonu suchej masy w 2015 roku. W tekście pracy Autorka zamieściła bowiem informację (str. 103), że na początku wegetacji po okresie zimowania nie było żadnych różnic w uwilgotnieniu gleby pomiędzy obiektami, a warunki suszy w 2014 roku nie miały wpływu na plon I odrostu w 2015 roku.
- Czy wynik maksymalnej wydajności kwantowej fotoukładu II w 29 dniu suszy dla odmiany Meldiva *Lolium multiflorum* nie jest błędem pomiarowym (ryc. 46)? Wynik ten odbiega od trendu w pozostałych obiektach, a ponadto zgodnie z danymi literatury (Bjorkmann i Demming, 1987) wartości badanego parametru Fv/Fm ratio kształtują się u roślin w zakresie 0,78-0,84, co wykazano w ocenianej pracy poza jedynym wątpliwym pomiarem.
- Co było argumentem dla wyboru flawonoidów spośród osmoprotektantów w analizie regresji pomiędzy ich koncentracją a intensywnością fotosyntezy netto i maksymalną wydajnością kwantową PSII (ryc. 49)?
- Jaki był sens prezentacji w tabeli 25 wyników zawartości suchej masy dla I i II odrostu w 2014 roku skoro stres suszy pojawił się w doświadczeniu po zbiorze II odrostu? Dodatkowo Autorka udowodniła statystycznie w odrostach I i II zależność odwrotną, że w kombinacji D (warunki suszy) trawy wykazują mniejszą zawartość suchej masy niż w kombinacji C (warunki kontrolne)! Ta sama sytuacja ma miejsce w analizie wyników zawartości suchej masy runi I i II odrostu w 2015 roku (tab. 26).
- Jak wyjaśnić większą koncentrację białka ogólnego w warunkach suszy w 2015 roku (tab. 28) skoro w 2014 roku była mniejsza (różnica istotnie statystycznie)?

Jako dobrze i profesjonalnie napisany oceniam rozdział „Dyskusja”. Autorka konfrontuje wyniki badań własnych z literaturą przedmiotu, w ciekawy i przekonujący sposób przytacza argumenty z rozprawy doktorskiej, potwierdzając je lub polemizując z rezultatami badań innych autorów. Niestety w pewnych fragmentach dyskusji Doktorantka nie uchroniła się od błędów interpretacyjnych. Jest to m.in. skutkiem analizy wyników plonu suchej masy w doświadczeniu polowym. Jeżeli w analizie efektów wpływu stresu suszy na plon suchej masy w 2014 roku uwzględni się plony III, IV i V odrostu, a nie wszystkich jak uczyniła Autorka, ranking reakcji traw na ten stres będzie następujący $Lp > Fp > Fa > Lm > Fb$. W tym miejscu pojawia się interesująca kwestia wyjaśnienia najmniejszej redukcji plonu w pierwszym roku

użytkowania w przypadku *Lolium perenne* w porównaniu do innych gatunków. Problem analizy danych plonowania traw wskutek suszy w odniesieniu do trzech a nie pięciu odrostów pojawia się ponownie w przypadku ploidalności odmian (str. 102). W dyskusji wyników badań własnych z danymi literaturowymi Autorka wielokrotnie, niepotrzebnie w mojej ocenie, sięga do prac podmiotowo dalekich od traw pastewnych, a dotyczących roślin uprawnych z innych rodzin botanicznych, np. buraków cukrowych (Pietkiewicz et al., 2005), a w skrajnym przypadku krzewów pustynnych *Augea capensis* i *Zygophyllum prismatocarpum* z pustyni Namib (van Heerden et al., 2007).

Zwieńczeniem każdej rozprawy naukowej, a dysertacji doktorskiej w szczególności są „Wnioski”. Ogrom materiałów wynikowych sugeruje obfitość wniosków. Tak też jest w przypadku ocenianej pracy. Autorka sformułowała 13 wniosków na 3 stronach maszynopisu. Niestety, nie stanowią one mocnej części pracy doktorskiej mgr inż. Anny Fariaszewskiej. Zasadniczo „Wnioski” są powtórzeniem wyników badań. Co ciekawe prawdziwe wnioski Autorka podaje w ostatnim akapicie dyskusji. Tym samym w przygotowywaniu pracy do druku sugeruję radykalne przeredagowanie wniosków.

IV. Uwagi szczegółowe do pracy.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na uchybienia, jakie wkradły się do tekstu pracy lub stwierdzenia, które wymagają uściślenia w przygotowywaniu pracy do druku:

- temat pracy w wersji angielskiej i polskiej różni się. Badania dotyczyły traw pastewnych z rodzajów *Lolium*, *Festuca* i *Festulolium*. Brakuje więc słowa „genera”;
- w tytule ryciny 3 (str. 19) zamiast słowa „scheme” pojawiło się „shame”; ta sama nieprawidłowość zapisu dotyczy rycin 4 i 5 (str. 27 i 30).
- tzw. literówki: str. 26 „hexploid”, str. 38. „termss”, tab.3-14 „treatemnt”, str. 39, „barunii”, ryc. 16 „intesity”, str. 109 „pretense”, str. 100 „pretenses”, str. 113 „filed”;
- str. 43 – w tabeli 4 jest zbędny znak istotności *** przy wartości 9,6e;
- str. 52-54 – tabela 9 i ryciny 25-27 powinny być zamieszczone w rozdziale 5.1.4.1;
- str. 55 – brak powołania w tekście i komentarza odnośnie ryc. 30;
- str. 59 – współczynnik korelacji pomiędzy WUE i E dla drugiego odrostu w tekście powinien wynosić $r=-0,57$, a w tabeli 15 $r=-0,476^*$;
- str. 63 – pod tab. 18 skrót WSC to „water soluble carbohydrates” a nie „sugars”; ta sama uwaga dotyczy tab. 27;
- str. 66 – brak w legendzie PI; to samo na str.96 i ryc. 50-51 – str. 98-99;
- str. 68-69 – jaka jest prawidłowa jednostka dla volumetric water content (ryc. 34-35)?;
- str. 69 – na ryc. 35 powinno być odwołanie do ryc. 34;

- str. 71 – brak spójności oznaczenia obiektów „susзовych” w tabeli i objaśnieniach: „D” czy „T”;
- str. 78 – na ryc. 40 pomiędzy DMY i WUE jest zależność ujemna, a nie jak napisano w tekście pozytywna;
- str. 88 – wyniki na ryc. 49 dotyczą badań z 2014 roku a nie 2015;
- str. 138 – „urwane” ostatnie zdanie streszczenia.

V. Wniosek końcowy.

Doktorantka wykazała się znajomością najnowszej literatury przedmiotu, wiedzą metodyczną i umiejętnością interpretacji wyników. Doświadczenia zostały prawidłowo zaplanowane i konsekwentnie przez Autorkę zrealizowane, a uzyskane wyniki pozwoliły Jej na weryfikację postawionych hipotez badawczych i osiągnięcie założonego celu pracy. Pragnę podkreślić, że wykazane w trakcie recenzji maszynopisu pracy uchybienia i niedociągnięcia nie obniżają wysokiej wartości naukowej rozprawy doktorskiej, w kilku przypadkach mają charakter dyskusyjny i w wielu miejscach redakcyjny. Niewątpliwie rozprawa doktorska mgr inż. Anny Fariaszewskiej wnosi trwały ślad w wiedzę z zakresu dziedziny nauk rolniczych, w dyscyplinie agronomii o specjalności biologii roślin, w tym traw pastewnych. Jestem głęboko przekonany, że zasługuje na pozytywną ocenę.

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia wymagania przewidziane „Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.), stawiane pracom doktorskim, toteż wnoszę do Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr inż. Anny Fariaszewskiej do dalszego postępowania w przewodzie doktorskim.



prof. dr hab. Piotr Goliński, prof. zw.