



**INSTYTUT FIZJOLOGII ROŚLIN**  
*im. Franciszka Górskiego*  
**POLSKIEJ AKADEMII NAUK**  
**POLISH ACADEMY OF SCIENCES**  
*The Franciszek Górski*  
**INSTITUTE OF PLANT PHYSIOLOGY**

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Tomasza Sobali pt.: Wybrane procesy fizjologiczne oraz wzrost podrostów buka *Fagus sylvatica* L. i jodły *Abies alba* Mill. w drzewostanach o różnej strukturze**

Rozprawa doktorska mgr Tomasza Sobali, doktoranta studiów doktoranckich Wydziału Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, została wykonana pod kierunkiem Pana dr hab. inż. Rafała Podlaskiego, prof. UJK (promotora) oraz Pana dr Macieja Kocurka (promotora pomocniczego) w Zakładzie Biologii Środowiska. W swojej rozprawie Doktorant scharakteryzował w sposób kompleksowy dwa wybrane typy drzewostanów oraz wzrost i fotosyntezę jodły i buka. Wykazał wyraźną zależność fotosyntezy od typu drzewostanu i stanu jego azurowości, a także odkrył szereg różnic w funkcjonowaniu aparatu fotosyntetycznego u wybranych gatunków drzew oraz w jego reakcji na różne natężenie światła.

Rozprawa doktorska Pana mgr Tomasza Sobali ma układ typowy - obejmuje 107 stron tekstu wliczając: Wstęp, Cel Pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja i Wnioski, Spis literatury (303 pozycje). Dodatkowo, zamieszczono streszczenie i słowa kluczowe w języku polskim i angielskim, spis rycin i tabel, oraz aneks.

Wstęp został napisany w sposób rzeczowy i syntetyczny. Podobnie jak w całej pracy, można w nim wyróżnić część ekologiczną oraz część fizjologiczną. W części ekologicznej scharakteryzowano drzewostany pod względem ich rodzajów, struktury piętrowej, oraz zmienności opisującej drzewa (ich grubość, wysokość i wiek). Opisano szerzej 2 gatunki drzew: buk i jodłę, które stanowią modele badawcze w niniejszej pracy. Przeprowadzono także analizę promieniowania słonecznego docierającego do różnych pięter lasu pod kątem zmian składu spektralnego oraz zmian udziału światła bezpośredniego i rozproszonego. W części fizjologicznej wstępu skoncentrowano się na przebiegu procesu fotosyntezy oraz na jego znaczeniu dla przyrostu biomasy. W sposób dosyć skrótowy opisano przebieg fotosyntetycznego transportu elektronów, wymieniono najważniejsze białka i opisano uszkodzenia wywołane stresem. Wymieniono także inne (poza światłem) czynniki kształtujące fotosyntezę i wzrost drzew.

Biorąc pod uwagę fakt, iż zasadniczą część analiz dotyczy rozkładu światła w drzewostanie, przyrostu drzew oraz ich zdolności fotosyntetycznej - zamieszczony we Wstępie opis procesu fotosyntezy uznaję jednak za zbyt skrótowy. Nie opisano specyficznej ultrastruktury chloroplastów i budowy anten fotosyntetycznych oraz ich zmian związanych z dostępnością światła. Nie wspomniano o regulacji świetlnej istotnej dla funkcjonowania enzymów cyklu Calvin-Bensona-Basshama. Ponadto, celem wprowadzenia do analiz wymiany gazowej liści, warto byłoby wspomnieć o mechanizmach regulujących otwieranie szparek. A w części dotyczącej opisu chloroplastowych mechanizmów ochronnych przeciwko nadmiarowi energii wzbudzenia nie wspomniano, przynajmniej hasłowo, o całej gamie strategii odpornościowych, takich jak np. fotooddychanie, dynamiczna

regulacja rozmiaru anten i ich migracja pomiędzy fotoukładami, eksport siły redukcyjnej z chloroplastów, czy zmiatanie reaktywnych form tlenu. Warto byłoby także poświęcić trochę miejsca różnicom w budowie anatomicznej liści buka i jodły, a także już we wstępie dokonać przeglądu aktualnego stanu wiedzy na temat wrażliwości 2 wybranych gatunków na stres radiacyjny. To w naturalny i logiczny sposób doprowadziłoby czytelnika do postawionego celu pracy. Pewien niedosyt budzi także dobór literatury. Np. W przypadku emisji fluorescencji ze wzbudzonej cząsteczki chlorofilu zacytowano jedynie pracę z roku 2016 podczas gdy zjawisko to jest znane z badań Kautzkiego opisanych w latach 50-tych ubiegłego stulecia.

Kolejnym rozdziałem jest Cel pracy. W tym rozdziale panuje pewien chaos. Problemy badawcze sformułowano raz jako hipoteza (nr 1 i 3) a raz jako pytanie (nr 2). Nie jest to jednak zarzut dla zasadności tych problemów lecz jedynie dla braku ich unifikacji. Aczkolwiek, mam wrażenie, że jeżeli wstępnie przyjąć opis drzewostanów gospodarczych jako „drzewostany wielopiętrowe o złożonej strukturze piętrowej” to hipoteza nr 1, dotycząca większego zróżnicowania pierśnic w tychże, może okazać się zbyt oczywista. W tym rozdziale zabrakło mi jakiegoś krótkiego logicznego uzasadnienia – dlaczego postawiono właśnie takie problemy badawcze, tym bardziej, że nie dopatrzyłam się takiej dramaturgii opisu we wstępie. Natomiast wypunktowanie zadań badawczych w formie listy zaplanowanych analiz – uważam za zbędne.

Rozdział Materiał i Metody został napisany w sposób prawidłowy i bardzo szczegółowy. Wybrane fragmenty lasu reprezentatywne dla drzewostanów gospodarczych w Nadleśnictwie Kielce i dla lasu zbliżonego do naturalnego w Leśnictwie Święta Katarzyna (w sumie 60 powierzchni badawczych, po 30 na każdy rodzaj drzewostanu) zostały bardzo starannie wybrane i scharakteryzowane. Tak duża pula wykorzystanych powierzchni badawczych buduje wysokie zaufanie do uzyskanych wyników.

Warsztat metodyczny Doktoranta jest dobrze dobrany do analizowanych celów i nowoczesny. Za pomocą zdjęć hemisferycznych oceniono ilość światła bezpośredniego i rozproszonego oraz stopień ażurowości. Przeprowadzono analizę składu spektralnego światła, rozmieszczenia pierśnic i ocenę przyrostu wierzchołkowego drzew. Na wybranych osobnikach jodły i buka z każdej powierzchni badawczej wykonano szereg analiz fizjologicznych, takich jak: pomiary wydajności kwantowej fotoukładu II, intensywności fotosyntezy, oddychania i transpiracji, zawartości chlorofilu i morfologii liści. Wykreślono dendrogramy opisujące rozkłady pierśnic drzew oraz wyprowadzono modele rozmieszczenia drzew na badanych powierzchniach. Przeprowadzono także gruntowną analizę zależności pomiędzy badanymi zmiennymi.

W opisie metodyki znalazłam jedynie kilka drobnych luk. W przypadku pomiarów  $P_N$  (str. 28) nie znalazłam informacji czy pomiar był bezinwazyjny czy też przeprowadzony na liściach odciętych. Jak opisano na str. 30 do analizy zawartości chlorofilu wzięto tylko po 2 liście z każdej powierzchni badawczej - to raczej za mała pula. W opisie analiz dotyczących morfologii liści (str. 32) zabrakło informacji na ilu liściach przeprowadzono pomiary. Przy wyjaśnieniu parametru  $qL$  nie wspomniano, że opisuje on pulę otwartych centrów reakcji PSII, a to mogłoby ułatwić dalszą interpretację tego wyniku.

Wyniki przedstawione na 5 tabelach i 14 rycinach zostały opracowane w sposób przejrzysty. Uzyskane wyniki poddano zaawansowanej analizie statystyczną (która niewątpliwie należy do mocnych stron pracy). Dodatkowo, w formie aneksu do pracy, dołączono 60 rycin charakteryzujących szczegółowo badane powierzchnie pod względem: gatunków, rozmieszczenia drzew i pierśnic wszystkich drzew. Mnogość przeprowadzonych analiz i uzyskanych wyników, oraz sposób ich

przeanalizowania świadczy o dużej pracowitości Doktoranta oraz o jego dużej sprawności w posługiwaniu się wyrafinowanymi narzędziami statystycznymi.

Moje uwagi do przedstawienia wyników zamieszczam poniżej:

- Dla jasności opisu danych, w legendzie do Ryc. 4-8 warto byłoby zaznaczyć że każdy punkt odpowiada 1-nej powierzchni badawczej.
- Na Ryc. 14 powtórzono dane przedstawione wcześniej na Ryc. 7 i 8. Wprawdzie wprowadzono pewną modyfikację polegającą na wyodrębnieniu na osobnych wykresach wartości ze stanowisk KIE i ŚKAT, oraz wyliczono nowe krzywe trendu, jednak przedstawiono te same średnie dla analizowanych powierzchni. Takich powtórzeń należy unikać.
- Wprowadzenie dwóch różnych podziałów ażurowości, czyli A (<24, 24-34 i >34, jak w Tab.3) oraz B (6-18 i 18-28, jak na Ryc. 13) budzi moje wątpliwości. Przy takim zabiegu znaczna część danych, dotyczących np. parametrów wydajności kwantowej PSII musiała się powtórzyć, pomimo że zostały one zebrane w inne średnie. Biorąc pod uwagę cel pracy jakim było porównanie drzewostanów gospodarczych z tymi zbliżonymi do naturalnych zebranie danych dla wszystkich powierzchni badawczych w 1-na grupę (takie jak w Tab. 3 oraz na Ryc. 7 i 8) uważam za zbędne i mylące. Zwłaszcza, że w dalszej części pracy pokazano istotne różnice pomiędzy powierzchniami KIE i ŚKAT. Rozumiem, że idea porównania 2 typów drzewostanów mogła pojawić się później niż ta dotycząca wpływu ażurowości na fotosyntezę. Trzeba jednak mieć na uwadze, że rozprawa musi stanowić nie budzący wątpliwości zestaw wyników. Dlaczego analizy o charakterze wstępnym nie koniecznie muszą być pokazywane lub można wyciągnąć wnioski dotyczące ażurowości i wpływu siedliska na podstawie 1-go sposobu przedstawienia danych.
- Zaznaczenie istotności na Ryc 13 jest niezrozumiałe. Przykładowo, dla buka zaznaczono gwiazdkę istotności przy słupku  $\phi$ PSII zarówno w KIE jak i ŚKAT. Czy ma to logiczne uzasadnienie?

W Dyskusji wnikliwie przeanalizowano uzyskane wyniki na tle literatury światowej jak i tej odnoszącej się do analizowanego terenu. Niewątpliwie jednym z osiągnięć pracy jest dostarczenie dokładnej charakterystyki drzewostanów Gór Świętokrzyskich. Wykazano, że intensywność fotosyntezy zależy od rodzaju drzewostanu oraz od jego ażurowości. Cennym potwierdzeniem tego drugiego wniosku jest zbieżność wyników zależności fotosyntezy od ażurowości z tzw. krzywymi świetlnymi dla wydajności kwantowej PSII. Opisano także specyficzną cechę jodły, polegającą na małym udziale  $Y_{NPQ}$  nawet przy względnie niskim natężeniu światła.

Ciekawym wynikiem jest wykazanie fotoinhibicji PSII w liściach buka wraz ze wzrostem ażurowości drzewostanu. Taka zależność wskazuje, że buk jest gatunkiem bardziej ceniolubnym niż jodła. Z punktu widzenia fizjologa, uważam ten wniosek za bardzo cenny i zasługujący na wnikliwą dyskusję (a także że na dalszą analizę) uwzględniającą możliwe zmiany ultrastukturalne i molekularne. Co więcej, stwierdzono także, że liście buka cechuje więcej chlorofilu w przeliczeniu na DW w porównaniu do liści jodły, co jest zgodne z ceniotolerancją tego gatunku. Jednakże dosyć nietypowymi wynikami są: podwyższona wartość stosunku chl a/b u buka (która sugeruje mniejsze anteny fotosyntetyczne (w porównaniu do jodły), oraz wzrost powierzchni liści buka, ze wzrostem ażurowości. Czy można pokusić się o jakieś wytłumaczenie tych nietypowych zmian?

Wyrażenie „fotosyntetyczny strumień fotonów w momencie osiągnięcia punktu saturacyjnego ( $PPFD_{SAT}$ ) .. zwiększał się ze wzrastającą ażurowością” jest niezgrabne i niezrozumiałe (str. 66). Należałoby raczej napisać: „Ze wzrostem ażurowości drzewostanu, fotosyntetyczny transport elektronów osiągał wartość maksymalną przy wyższej wartości strumienia fotonów”.

Ponadto, wytłumaczenie tej relacji budzi zdecydowany niedosyt. Wskazano jedynie na zwiększoną syntezę białek zaangażowanych w fotosyntetyczny transport elektronów czy w karboksylację RuBP. Tymczasem na taką relację może mieć wpływ cały szereg różnych mechanizmów, takich jak m.in. te związane z regulacją rozmiarów anten fotosyntetycznych, konsumpcją nadmiaru siły redukcyjnej w chloroplastach bądź z jej eksportem do cytozolu, ze zmiataniem reaktywnych form tlenu, bądź z możliwością transportu asymilatów.

Ciekawą interpretacją Autora, jest wskazanie, że brak zmian zawartości chlorofilu w liściach jodły w różnych zakresach ażurowości może mieć związek z ich zimozielonością (str. 71). Wprawdzie nie do końca się z tym zgadzam, ale najbardziej brakuje mi tu zaproponowania jakiegoś mechanizmu. Zawartość chlorofilu ma przecież ścisły związek z rozmiarami anten fotosyntetycznych, a to jest cechą dynamicznie regulowaną poprzez signaling retrogradowy z chloroplastów który powoduje zmiany ekspresji genów jądrowych kodujących białka LHClI (tych informacji brakowało mi także we Wstępie).

Jeżeli gruba kutikula i obecność barwników ekranujących w szpilkach jodły (jak to przedyskutowano na str 72) chroni przed nadmiarem energii wzbudzenia w warunkach silnego światła (czyli dużej ażurowości) to w warunkach słabego światła (niskiej ażurowości) można by oczekiwać deficytu energii wzbudzenia i zwiększenia zawartości chlorofilu. Czy któryś z parametrów może na to wskazywać?

Odnosząc się do tezy Autora, przedstawionej na stronie 10 Wstępu oraz na stronie 78 Dyskusji, dotyczącej znaczenia światła zielonego dla fotosyntezy niższych pięter lasu nasuwa mi się pytanie: Jak pogodzić tę tezę z wiedzą, że otwieranie szparek jest sterowane innym zakresem widma?

We Wnioskach bardzo skrótowo odpowiedziano na postawione hipotezy i pytania badawcze, chociaż wydaje mi się że chwilami zbyt syntetycznie. Wniosek nr 4 jest źle sformułowany stylistycznie ale mniemam, że odnosi się on do większej dostępności światła w drzewostanach gospodarczych co stwarza lepsze warunki dla fotosyntezy. W takiej formie jest on bardzo podobny do wniosku nr 1, opisującego bardziej zróżnicowany rozkład pierśnic w drzewostanach gospodarczych, w przeciwieństwie do większego udziału starych/dużych drzew w drzewostanach zbliżonych do naturalnych. Aby uczynić ten wniosek bardziej unikalnym należałoby tutaj wejść w szczegóły dotyczące procesu fotosyntezy. Bądź co bądź wykonano szereg bardzo różnorodnych analiz tego procesu.

W zasadniczej części praca jest napisana poprawnym językiem naukowym jednakże znalazłam kilka niefortunnych sformułowań.

- Np. na str 11 " spadek szybkości transportu elektronów może być obecny.." (str. 11), , "wzrost wysokości drzew" (str. 13), "pomiarzy zaawansowanych procesów fizjologicznych.." (str. 13).
- Rozpoczynające akapit na stronie 13 stwierdzenie: "Istnieje wiele doniesień na temat dodatniej zależności pomiędzy aktywnością fotosyntetyczną roślin a ich wzrostem" uważam za zbyt trywialne.
- Parametr  $F_v/F_m$  (opisujący maksymalną wydajność kwantową PSII) wprowadzono błędnie (i konsekwentnie w całej pracy) jako "FvFm" – co sugeruje mnożenie tych 2 wartości zamiast dzielenia.
- Sformułowanie „rośliny ze stanowisk nasłonecznionych posiadają na ogół dobrze wykształcone struktury łańcucha transportu elektronów" (str. 67) jest na tyle ogólne i nieprecyzyjne że niczego nie tłumaczy.

- Tytuł rozdziału 4.4.2. na str. 28 "Pomiary wymiany gazowej w podczerwieni" jest nieco mylący ponieważ, jak opisano w dalszej części, pomiary przeprowadzono w świetle czerwono-niebieskim. Rozumiem przyczynę tej rozbieżności i podaję tę uwagę jedynie z troski o precyzję języka naukowego.

- Pojawiający się kilkakrotnie w Dyskusji zwrot „transport elektronów fotosyntetycznych” (np na str. 66, 67 i 75) uważam za nieuprawniony skrót myślowy.

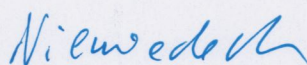
- CO<sub>2</sub> - to nazwa związku chemicznego, więc umieszczanie go w skrótach uważam za zbędne.

Uwaga na marginesie: Doktorant w niepodważalny sposób udokumentował zwiększenie aktywności fotosyntetycznej podrostów buka i jodły w drzewostanach gospodarczych, w stosunku do lasów zbliżonych do naturalnych. Pozostaje mi mieć nadzieję, iż ta ekspertyza nie będzie stanowiła podstawy do zastąpienia tych drugich drzewostanami gospodarczymi. Trzeba wszak pamiętać, że korzyści płynące z lasów zbliżonych do naturalnych są wielorakie, ponadto uzyskane wyniki odnoszą się tylko do podrostów a w przypadku fotosyntezy drzew starszych relacja może być inna.

#### **Wniosek końcowy:**

Podsumowując, chciałabym podkreślić, że moje krytyczne uwagi mają charakter pomocniczy i nie umniejszają wartości rozprawy doktorskiej mgr Tomasza Sobali. Doktorant zrealizował cele postawione w pracy, opanował nowoczesne metody badawcze, uzyskał oryginalne wyniki i umiejętnie je przedyskutował na tle literatury światowej. Stwierdzam jako recenzent, że praca doktorska zatytułowana: „Wybrane procesy fizjologiczne oraz wzrost podrostów buka *Fagus sylvatica* L. i jodły *Abies alba* Mill. w drzewostanach o różnej strukturze” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Występuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach z wnioskiem o dopuszczenie Pana mgr Tomasza Sobali do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 27.11.2020



Prof. dr hab. inż. Ewa Niewiadomska  
Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego  
PAN  
Kraków