

Bydgoszcz, 04 Listopada 2018r.

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej pt. „Możliwości ograniczania występowania inwazyjnych gatunków *Solidago* spp. bez wykorzystania herbicydów”

wykonanej przez mgr Dorotę Gala-Czekaj w Katedrze Agrotechniki i Ekologii Rolniczej na Wydziale Rolniczo-Ekonomicznym Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie.

Wstęp

O zastosowaniach roślin zielarskich w służbie ludzkiej można mówić od 3000 lat p.n.e. Na babilońskich tabliczkach glinianych zostały zobrazowane zabiegi lecznicze z wykorzystaniem ziół, a w „Wielkim Kanonie Ziół” legendarny cesarz chiński Shen Nung w 2698 r. p.n.e. zawarł wiedzę na temat 252 gatunków, które sam zebrał, przetestował i opisał, co stanowiło wzór dla przyszłej farmakopei. Etap rozpoznawania własności ziół przeszedł w rozwój nowych dyscyplin naukowych, takich jak ekologia chemiczna i biochemiczna oraz przyczynił się do rozpoznania zjawiska allelopatii, homeopatii czy biodynamiki. W praktycznym ujęciu, najczęściej zastosowań naturalnych produktów roślinnych mamy w rolnictwie ekologicznym. Dalej jednak należy pamiętać, że w globalnej produkcji żywności, chemiczne środki ochrony roślin stanowią około 2,5 mln ton użycia rocznie we wszystkich uprawach. Ta oręż jest stosowana przeciwko 20 000 gatunkom chorób, szkodników i chwastów, które zabierają 1/3 światowej produkcji żywności. W trosce o zachowanie jak najwyższych standardów podczas zwalczania chwastów, zwłaszcza inwazyjnych, ważne są przede wszystkim aspekty środowiskowe. Zastosowanie środków biotechnicznych, w tym naturalnych substancji pochodzenia roślinnego, powinno odgrywać istotną rolę w tym względzie, gdyż substancje te ulegają biodegradacji i nie obciążają ekosystemów. Około 800 gatunków roślinnych posiada substancje biologicznie aktywne, ale nieliczne z nich są używane w praktyce rolniczej. Jest ich mniej niż 1% na rynku środków ochrony, zwłaszcza do zwalczania chwastów (np. Argold, Shado czy BurnOut). Środki biotechniczne należące do grupy bioherbicydów zawierają biologicznie czynne substancje pochodzenia roślinnego (olejki eteryczne, np. cinmetylina, saponiny, kwasy organiczne, np. kwas octowy), regulatory wzrostu roślin oraz semiozwiązki o charakterze alleloherbicydów.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Doroty Gali-Czekaj pod w/w tytułem mieści się na 196 ponumerowanych stronach. Praca ma klasyczny układ, podzielona została na 7 rozdziałów: Wstęp, Przegląd piśmiennictwa, Cel badań, Materiał i metody badań, Wyniki i dyskusja, Wnioski, Bibliografia, Streszczenie oraz Abstract. Układ pracy i kolejność treści jest właściwy jak dla rozpraw doktorskich, a podział rozdziałów na podrozdziały czyni ją bardzo przejrzystą. Przedmiotem badań jest nawłoc – *Solidago*, rodzaj, w obrębie którego Autorka wybrała nawłoc kanadyjską i nawłoc olbrzymią, dwa gatunki należące do jednych z najbardziej inwazyjnych roślin obcego pochodzenia w Polsce i w Europie.

W dwustronicowym Wstępie Pani mgr Dorota Gala-Czekaj przedstawiła uzasadnienie podjętych przez siebie badań. Ze względu na wielostronną szkodliwość nawłoci kanadyjskiej i nawłoci olbrzymiej zarówno dla flory oraz fauny siedlisk, w których one występują, a także ich inwazyjną presję, należy poszukiwać metod skutecznej regulacji tych roślin. Chociaż metoda chemiczna jest najpowszechniejszym sposobem ograniczania nawłoci, jej wykorzystanie jest jednak prawnie ograniczone, m. in. na terenach chronionych i w pobliżu

cieków wodnych. Istnieje zapotrzebowanie na proekologiczne metody tejże regulacji, bez używania herbicydów, zwłaszcza w siedliskach seminaturalnych i naturalnych, na obszarach przyrodniczo cennych. Inspiracje przed sformułowaniem szczegółowych celów swych badań oraz postawieniem hipotez badawczych Autorka poprzedziła bardzo rzetelną analizą piśmiennictwa w zakresie przedmiotowym i spodziewanych efektów czynników badawczych. Obszerny przegląd literatury, który zajmuje 30 stron maszynopisu, jest urozmaicony 19 fotografiami i jedną tabelą. Przygotowując przegląd literatury Pani magister opierała się na 159 pozycjach bibliograficznych (co stanowi 85% zebranej literatury), które zostały zacytowane w sumie 371 razy. Tak obszerne studia piśmiennictwa świadczą o ważności podjętych badań w Polsce w konfrontacji z tym, co już wiadomo było na Świecie.

Koncepcja rozprawy doktorskiej została podzielona na dwa zadania badawcze; pierwszym było przebadanie biologicznych metod regulacji nawłoci w oparciu o potencjał allelopatyczny i autoallelopatyczny wyciągów roślinnych, a także wykorzystanie w tym celu roztworów kwasów organicznych. Drugim zadaniem badawczym było sprawdzenie skuteczności zabiegów mechanicznych o różnej intensywności, w celu regulacji procesu samoodnawiania nawłoci. Nawiązując do obydwu zadań Autorka sformułowała poprawnie dwie hipotezy merytoryczne. Podjęcie się tej problematyki badawczej uważam za wysoce uzasadnione ze względów zarówno poznawczych, jak i praktycznych.

Ocena pracy pod względem metodycznym oraz merytorycznym

Rozdział Materiał i metody badawcze zajmuje 29 stron a w jego skład poza tekstem wchodzi 17 fotografii, 7 rysunków i 4 tabele. W rozdziale tym występuje 13 cytowanych publikacji oraz 1 oprogramowanie. Podstawą prowadzonych prac badawczych przez Panią Dorotę Gałę-Czekaj były cztery doświadczenia naukowe; dwa laboratoryjne oraz dwa polowe. W laboratorium Katedry Agrotechniki i Ekologii Rolniczej Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie oraz w szklarni Katedry Hodowli Roślin i Nasiennictwa tej Uczelni wykonane zostały dwa doświadczenia laboratoryjne w celu oceny autoallelopatycznego i allelopatycznego wpływu wyciągów wodnych z roślin towarzyszących nawłoci kanadyjskiej i nawłoci olbrzymiej w jej naturalnych siedliskach. Materiał siewny nawłoci do swoich badań Autorka skolekcjonowała z 10 lokalizacji na terenie województw małopolskiego i świętokrzyskiego. W pierwszym doświadczeniu zostały wykorzystane wyciągi roślinne z liści i łodyg pokrzywy zwyczajnej, z liści, łodyg i kwiatostanów wrotyczu pospolitego oraz z korzeni chrzanu pospolitego, w stężeniach odpowiednio 5, 10 i 20%. Wpływ nalistnej aplikacji tych wyciągów był sprawdzany w odniesieniu do wodnej kontroli. Sporządzenie wyciągów i ich nalistna aplikacja były wykonane według standardowych procedur. Autorka dokonała trzykrotnej, wizualnej oceny uszkodzeń roślin nawłoci oraz pomierzyła świeżą masę części nadziemnych i podziemnych roślin po okresie 3 tygodni od zastosowania. W drugim doświadczeniu laboratoryjnym dokonała oceny wpływu autoallelopatycznego wyciągów wodnych pochodzących z części wegetatywnych i generatywnych obydwu gatunków nawłoci. Do nalistnej aplikacji zastosowała 5 i 10% stężenia wyciągów tych roślin, które były w fazie wegetatywnej, w fazie generatywnej oraz z kłączy. Sporządzenie wyciągów oraz ich aplikacja były wykonane poprawnie. Autorka dokonała

dwukrotnej, wizualnej oceny uszkodzeń części nadziemnych roślin oraz pomiaru świeżej masy części podziemnej i nadziemnej badanych roślin. Obydwa doświadczenia zostały wykonane w podobnych warunkach metodycznych, z zapewnieniem maksymalnej staranności podczas prowadzenia uprawy nawłoci, która nie należała do zadania łatwego, zważywszy na szkodniki i choroby w szklarni. Autorka zapewniła wystarczającą liczbę powtórzeń badanych obiektów, co dało obiektywną liczbę stopni swobody w statystycznej analizie danych z tych doświadczeń. Źródłem bardzo cennych wyników są badania poświęcone zawartości związków fenolowych, potencjałowi oksydacyjnemu oraz wybranych fitohormonów w wyciągach, które stosowano w regulacji nawłoci.

W okresie od kwietnia do października, w latach 2013 – 2015, Doktorantka prowadziła badania w oparciu o doświadczenie mikropoletkowe, które założyła w Krakowie – Mydlnikach na terenie odłogowanym przez okres 10 lat, trwale porośniętym przez nawłocie. Celem tych badań było sprawdzenie możliwości regulacji nawłoci za pomocą 10% roztworów kwasów cytrynowego i octowego, w pierwszym roku badań, oraz 10, 20 i 30% roztworów tychże kwasów w drugim i trzecim roku badań. W doświadczeniu tym, bardzo rzetelnie opisanym w poszczególnych podrozdziałach, Doktorantka wykonała ogromną pracę badawczą. Zastosowane materiały, przygotowanie roztworów oraz ich aplikacja nie budzą żadnych zastrzeżeń. W każdym sezonie wegetacji Autorka dokonywała dwukrotnej, wizualnej oceny uszkodzeń nadziemnych części nawłoci. Po 4 miesiącach od aplikacji kwasów zbierała rośliny nawłoci w celu pomiaru ich biomasy, policzenia liczby pędów, długości oraz masy części nadziemnej, kwiatostanu oraz liczby pięterek kwiatostanowych.

W ostatnim doświadczeniu, polowym, prowadzonym w latach 2015-2016, w tej samej lokalizacji, co doświadczenie mikropoletkowe, Doktorantka badała wpływ zabiegów mechanicznych (1 i 2 – krotne koszenie oraz koszenie z zastosowaniem 1-2 razy glebogryzarki) na przebieg rozwoju oraz samoodnawiania nawłoci. Tutaj dokonała analizy fitosocjologicznej, z zastosowaniem metody Braun-Blanquet'a, do określenia stopnia pokrycia powierzchni przez rośliny określonych gatunków, towarzyszących nawłoci. Wyróżniła gatunki krótkotrwałe i wieloletnie, w obrębie wieloletnich wyróżniła drzewa i krzewy w stadium juvenilnym. W celu określenia tempa samoodnawiania się inwazyjnych nawłoci, po mechanicznych zabiegach, Autorka systematycznie obserwowała fazy wzrostowo-rozwojowe nawłoci i dokonywała pomiaru ich świeżej masy oraz wybranych parametrów morfologicznych.

Koncepcja badań opartych na tych czterech doświadczeniach jest bardzo logiczna i w pełni odzwierciedla temat pracy. Dobór czynników i obiektów badawczych jest w każdym doświadczeniu trafiony, umożliwia prześledzenie potencjału biologicznej i mechanicznej regulacji populacji nawłoci. Zakres pomiarów i obserwacji na przedmiotowej nawłoci jest na tyle szczegółowy, że daje podstawę do uzyskania bardzo ciekawych wyników o charakterze poznawczym i praktycznym. Na szczególne uznanie dla Autorki zasługuje skrupulatne opisanie tła wszystkich prowadzonych doświadczeń oraz dokumentacja zdjęciowa zawarta na fotografiach głównie własnego autorstwa.

Statystyczna analiza danych. Autorka sprawdzała normalność rozkładów uzyskanych danych dla wszystkich populacji generalnych za pomocą testu Shapiro-Wilka oraz jednorodności wariancji obiektowych testem Levene'a. Jest to słuszne z powodu wymogów analiz wariancji co do normalności i jednorodności. Procedury analizy wariancji, stosownie do zastosowanych modeli doświadczalnych, Autorka zastosowała na danych oryginalnych (z rozkładem normalnym) lub transformowanych (w przypadku braku normalności rozkładu), wykorzystując podejście modeli liniowych (GLM). Po odrzuceniu hipotez zerowych w analizach wariancji, testowanie różnic między średnimi obiektowymi Autorka przeprowadziła w oparciu o test HSD Tukey'a, na poziomie błędu 5%. Wszystkie obliczenia oraz wykresy z wynikami Autorka wykonała w programie Statistica 13.1. Dobór metod statystycznych jest w pełni wystarczający i nie budzi zastrzeżeń.

Omówienie i dyskusja wyników to piąty rozdział stanowiący zasadniczą część pracy, który zawiera się na 105 stronach, co stanowi ponad 50% objętości dysertacji. W jego skład poza tekstem wchodzi 4 fotografie, 122 rysunki oraz 1 tabela. Doktorantka przedstawiła rezultaty badań z komentarzem słownym stanowiącym syntetyczne opracowanie bardzo obszernego materiału. Według obranego schematu Autorka przedstawiła na wykresach typu wąs – pudełko średnie obiektowe wraz z 95% przedziałami ufności średnich dla wszystkich badanych cech. Dodatkowym atrybutem prezentowanych wyników są fotografie roślin nawłoci w różnych wariantach zastosowanych czynników, zarówno w laboratoryjnych jak i poletkowych badaniach. Dyskusja do wyników własnych w rozprawie doktorskiej Pani Gali-Czekaj jest prowadzona w każdym rozdziale po ich omówieniu i stanowi integralną część omawianych zagadnień. Dyskusja jest napisana dojrzałe w sposób uporządkowany, co powoduje, że czyta się ją z przyjemnością. Obejmuje wszystkie główne hipotezy stanowiące cel pracy. Autorka w systematyczny i logiczny sposób przechodzi przez kolejne zagadnienia rozważając w każdym przypadku argumenty za i przeciw określonym stwierdzeniom. Wyniki badań własnych w przekonujący sposób skonfrontowała z danymi z literatury krajowej i zagranicznej. W rozdziale tym oparto się na 44 publikacjach naukowych, (z czego 16 użyto wyłącznie w dyskusji), które były przytaczane w sumie 67 razy. Na podstawie własnych wyników sformułowanych zostało 13 wniosków obejmujących całość przeprowadzonych badań.

Ocena pracy pod względem formalnym i strukturalnym

Praca doktorska pod względem edytorskim jest przygotowana starannie i na wysokim poziomie standardu naukowego. Wysoko oceniam umiejętności Doktorantki w przygotowaniu materiału tekstowego oraz wykresów i tabel, co gwarantuje gotowość prezentacji wyników do druku. Tekst jest napisany poprawną polszczyzną, językiem naukowym zwięzłym i ścisłym.

Bibliografia zajmuje 14 stron i zawiera 178 pozycji literaturowych. Dodatkowo w skład bibliografii wchodzi 5 źródeł internetowych, 3 akty prawne oraz jeden pakiet oprogramowania. Wśród literatury występuje 90 pozycji krajowych co stanowi 50,57% oraz 88 pozycji obcojęzycznych co stanowi 49,44%. Wszystkie pozycje literaturowe zawarte

w bibliografii występują w rozprawie doktorskiej. Wśród pozycji literaturowych 174 pozycje zostały wydane po 2000 roku, co stanowi 93,56%, pozostałe publikacje pochodzą z lat wcześniejszych i stanowią jedynie 6,44% wszystkich pozycji. Najstarsza publikacja cytowana przez autorkę pochodzi z 1971 roku a najświeższe cytowania pochodzą z tego roku.

Uwagi

W tekście jest kilka drobnych usterek stylistycznych, np. we Wstępie, 12 linijka „w niemal całej Polsce”, powinno być „niemal w całej Polsce”. Na str. 37 w trzeciej linijce zamiast „substancją aktywną” powinno być „substancję aktywną”.

Rozdział 4.3.2. „Do badań wykorzystano ten sam materiał roślinny, który w doświadczeniach ...” powinno być „który zastosowano w doświadczeniach...”.

Rozdział 4.3.3. „W doświadczeniu badano te same rodzaje i stężenia wyciągów, które w eksperymencie...”, powinno być „które zastosowano w eksperymencie...”.

W rozdziale 5.1.1., str. 70 Powinno być „Średnie uszkodzenia dla wszystkich gatunków roślin-donorów i stężeń...”, str. 74 zamiast „...w kolejnym terminach analiz” powinno być „...w kolejnych terminach analiz”.

W rozdziale 4.1.3. na str. 43, w drugiej linijce należałoby podać jakie było natężenie światła w doświetlaniu roślin, w Lux lub w $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. W tym samym rozdziale, na str. 44 w szóstej linijce zamiast „czynniki badawcze” powinno być „obiekty doświadczalne”, bowiem wymieniono kombinacje 2 czynników (rodzaj wyciągu i stężenie). Ta sama uwaga dotyczy również opisu kolejnych obiektów w pozostałych doświadczeniach.

W rozdziale 4.2.3. jest podana informacja, że zastosowano nawożenie nawozem wieloskładnikowym Ekoplone. Dobrze byłoby podać skład tego nawozu.

W rozdziale 4.4.1. Autorka pisze, że „...ze względu na podobieństwo budowy morfologicznej, biologii i ekologii, w doświadczeniu tym nie rozróżniano nawłoci” Pytanie: czy ze względu na trudności w rozróżnianiu gatunków tego nie zrobiono?

Zdarzają się błędne sformułowania pod względem oceny efektów badanych czynników. Na przykład w rozdziale 5.2.1., str. 83 czytamy, że „Czynnikiem różnicującym wielkość uszkodzeń występujących na częściach nadziemnych nawłoci kanadyjskiej i nawłoci olbrzymiej było pochodzenie wyciągów...”, a dalej, że „...analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic”. Na rysunku 21 to zjawisko zostało zobrazowane i rzeczywiście nad wszystkimi kolumnami są literki „a”. W takiej sytuacji nie powinno się komentować, że czynnikiem różnicującym było pochodzenie wyciągów. Podobnie, na rys. 60, brak różnic pomiędzy kontrolą a zastosowanymi kwasami na biomasę nawłoci również nie powinien być komentowany, że : ”stwierdzono ograniczenie udziału nawłoci...”. Duże odchylenia od średnich (które są źródłem błędów) nie pozwoliły na istotną ocenę badanych efektów i z tym trzeba się pogodzić. Statystyka jest jak nożyce, to czego nie daje się odciąć za pomocą jej narzędzi jest „nieistotne”. Można jedynie w takich sytuacjach pisać, że pojawiła się tendencja do jakiegoś różnicowania, ale nie potwierdzona statystycznie.

Brak interakcji pomiędzy poziomami czynników należałoby krótko skomentować i nie prezentować na wykresach, dotyczy np. rys. 55 i 56 str. 111 i 112.

Jeśli wyrażamy różnicę w odniesieniu do danych w %, to piszemy, że jest ona w pkt%. Dotyczy to komentarza na str. 84, różnica pomiędzy 27,6% a 17,3% to 10,4 pkt %, a nie 10%.

Na niektórych rysunkach przedziały ufności dla średnich są bardzo duże, ale co najgorsze są jednakowej długości, np. na rys. 25. Moim zdaniem jest to błędnie wykonana prezentacja graficzna w programie Statistica. W programie tym nie należy wybierać jednakowych przedziałów dla wszystkich średnich. Na tym rysunku można by również oznaczenia grup jednorodnych np. „abcdef” zastąpić poprzez oznaczenie „a-f”. Na rys. 31 brakuje oznaczenia literowego „b”, skoro są obiekty „a” i „ab”.

Rozdział 5.3.2. Omówienie zawartości fitohormonów str. 98-102 zostały podane w ng na l wyciągu. Wartości te są w bardzo dużym zakresie i sięgają nawet 7 cyfr znaczących przed przecinkiem i jednego po przecinku. Powinno się je zamienić na jednostki wyższego rzędu, tj. µg lub nawet mg. Wystarczy dokładność 4 cyfr znaczących w omówieniu wyników. Na str.15. powinno być Tokarska-Guzik i in. 2012, zamiast Tokarska-Guzik 2012. Te uwagi mogą się przydać podczas przygotowywania tekstu do druku i nie umniejszają ogólnej wartości rozprawy.

Pytania: 1. Czy nawłoc posiada wrogów naturalnych, potencjalnie możliwych do wykorzystania w biologicznym zwalczaniu? 2. Czy mogłaby Pani Magister oszacować, jaki byłby koszt skutecznego ograniczenia nawłoci, np. na terenie odłogowanym bez użycia herbicydów?

Podsumowanie

Należy uznać, że wkład rozprawy doktorskiej pt. „Możliwości ograniczania występowania inwazyjnych gatunków *Solidago* spp. bez wykorzystania herbicydów” wykonanej przez mgr Dorotę Gala-Czekaj w stan wiedzy na temat biologicznych i mechanicznych sposobów regulacji zachwaszczenia jest duży i dopełnia brakujące elementy poznawcze dla możliwości ograniczania nawłoci na terenie Polski. Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca zawiera wiele ciekawych wyników o znaczeniu poznawczym i praktycznym a Autorka wykazała się umiejętnością ich analitycznego przedstawienia, przedyskutowania i wyciągnięcia wniosków. Na podstawie powyższych faktów stwierdzam, że praca przygotowana przez mgr Dorotę Galę – Czekaj w pełni spełnia wszelkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim w dziedzinie nauk rolniczych, w zakresie dyscypliny naukowej agronomii (Ustawa z dn. 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki; Dz. U. z 2003 r., Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami oraz Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30 października 2015 r.). W związku z tym stawiam wniosek do Rady Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie mgr Doroty Gali-Czekaj do publicznej obrony pracy doktorskiej. Równocześnie ze względu na wysoki poziom naukowy oraz możliwość praktycznego wykorzystania wyników stawiam wniosek o wyróżnienie powyższej rozprawy.

Dr hab. inż. Anna Wenda-Piesik, Prof. UTP