

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Luchowskiej
pt. „Wpływ genotypu oraz wybranych czynników agrotechnicznych na plony i jakość
surowca bzu czarnego (*Sambucus nigra*L.)”
wykonanej w Katedrze Roślin Przemysłowych i Leczniczych
na Wydziale Agrobioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
pod kierunkiem prof. dr hab. Barbary Kołodziej oraz dr hab. Danuty Sugier,
prof. nadzw. – promotora pomocniczego**

1. Uwagi ogólne

Wymogiem rozprawy doktorskiej, przygotowanej pod opieką promotora jest, aby stanowiła ona oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazywała ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej, a także jego umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Podejmując się recenzji rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Luchowskiej, starałam się stwierdzić na ile dysertacja ta spełnia wymienione wymogi.

Jak wynika z dokonanej analizy przedmiotu badań, rozprawa ta stanowi oryginalne opracowanie ukazujące w sposób kompetentny na podstawie przeprowadzonych badań zagadnienie związane z wpływem genotypu oraz wybranych czynników agrotechnicznych na plony i jakość surowca bzu czarnego (*Sambucus nigra* L.).

Przedmiot badań zaprezentowany w recenzowanej pracy jest interesujący i ważny. Praca wpisuje się w nurt badawczy dotyczący wprowadzania w naszym kraju do powszechnej uprawy gatunków roślin dostarczających surowców o właściwościach prozdrowotnych. Do tej grupy roślin można zaliczyć bez czarny (*Sambucus nigra* L.), którego kwiaty i owoce o wielokierunkowym działaniu mają duże znaczenie w przemyśle spożywczym i ziołolecznictwie. Surowice te w Polsce dotychczas pozyskiwane są głównie z krzewów dziko rosnących. W ostatnim czasie wzrasta zainteresowanie uprawą bzu czarnego w naszym kraju i zaczęły powstawać pierwsze plantacje tego gatunku. W dostępnej literaturze brak jest jednakże informacji o technologii uprawy tej rośliny oraz kompleksowych opracowań dotyczących plonowania i jakości surowca w zależności od czynników agrotechnicznych w polskich warunkach klimatycznych i glebowych.

Praca dobrze ilustruje pewien fragment szeroko pojętej agrotechniki roślin leczniczych w naszym kraju. Warto podkreślić, że na tle innych publikacji tego typu (szeroko zresztą cytowanych przez Autorkę). Praca mgr Katarzyny Luchowskiej wyróżnia się nie tylko tym, że badania zostały dobrze zaplanowane, ale także to, że porusza ona wątki często całkowicie pomijane lub też analizowane we wspomnianych publikacjach tylko pobieżnie.

Pod względem metodologicznym dysertacja doktorska nie budzi wątpliwości i posiada charakter nowatorski.

2. Wybór przedmiotu i tematu rozprawy

Problematyka wprowadzania do uprawy roślin leczniczych nabiera obecnie szczególnej wagi ze względu na rosnące wymagania ze strony przemysłu co do jakości przetwarzanych surowców. Za uprawą roślin zielarskich przemawia też rosnące zapotrzebowanie na surowce zielarskie, zmniejszanie się terenów na których prowadzone są zbiory ze stanowisk naturalnych, możliwość wprowadzenia nowych gatunków i odmian do uprawy polowej oraz optymalizacja ich produkcji, zarówno pod względem wielkości plonu, jak i zawartości substancji czynnych. Ten aspekt został uwzględniony w pracy i przez jej autorkę rozwinięty.

Bez czarny (*Sambucus nigra* L.) jako obiekt badawczy budzi zainteresowanie zarówno ze względu na swoje właściwości fitochemiczne jak i możliwości wykorzystania w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym oraz kosmetycznym. Gatunek ten jest rośliną charakterystyczną dla polskiej flory i należy do bardzo „starych” roślin użytkowych, gdyż stanowi źródło witamin i cennych składników. Surowcem zielarskim są zarówno kwiaty, jak i owoce. Kwiaty, których zbiór przypada na drugą połowę maja i początek czerwca, zawierają flawonoidy, olejek eteryczny, garbniki, potas, wapń, sód, fosfor, a także kwasy organiczne. Owoce natomiast, których zbiór przypada na sierpień–wrzesień, są skarbnicą witaminy C, zespołu wit. z grupy B, a także soli mineralnych, antocyjanów, karetonoidów, garbników i wielu innych.

Czarny bez przede wszystkim łagodzi objawy przeziębienia, a dzięki zawartości witamin i soli mineralnych wzmacnia odporność organizmu i czyni go mniej podatnym na różnego rodzaju infekcje.

Szansą na pozyskanie zwiększonej masy kwiatów i owoców bzu czarnego o wysokiej jakości jest opracowanie technologii uprawy dla tego gatunku w warunkach klimatycznych i glebowych Polski. Przeprowadzone przez mgr Katarzynę Luchowską badania i uzyskane wyniki stanowią próbą rozwiązania problemów napotykaną przy uprawie bzu czarnego.

3. Cel pracy, tezy i pytania badawcze

Praca zawiera jasno sformułowaną hipotezę badawczą oraz przejrzyste postawione i sformułowane cele badawcze, które dosyć dobrze odzwierciedlają jej zakres przedmiotowy.

W zakresie poznawczym:

1. Poznanie wpływu zastosowanych zróżnicowanych dawek nawożenia mineralnego (azotem, fosforem, potasem) oraz aplikacji nawozów dolistnych na plon i jakość surowca.
2. Określenie najbardziej plennych i zawierających substancje biologicznie aktywne w znaczących ilościach odmian komercyjnych *S.nigra* i porównanie ich z populacjami dziko rosnącymi.
3. Określenie zakresu zmienności w zawartości najważniejszych związków biologicznie aktywnych wpływających na właściwości antyoksydacyjne surowca (kwiatów i owoców) oraz otrzymanego z owoców soku.

W zakresie praktycznym:

1. Określenie efektów finansowych uprawy tego gatunku w zależności od rodzaju zbieranego surowca.
2. Przedstawienie w sposób uproszczony opłacalność uprawy towarowej bzu czarnego.

Ww. cele znajdują wyraz w treści pracy, gdzie Autorka bierze pod uwagę różne elementy i aspekty badanych zjawisk i procesów.

4. Struktura rozprawy

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Luchowskiej pt., „Wpływ genotypu oraz wybranych czynników agrotechnicznych na plony i jakość surowca bzu czarnego (*Sambucus nigra* L.) realizowana w latach 2009-2015 obejmuje 221 stron, w tym 194 strony tekstu rozprawy (bez spisu treści, piśmiennictwa oraz barwnych fotografii). W pracy zamieszczono 54 tabele, 21 rysunków oraz 30 barwnych fotografii.

Praca składa się z 8. rozdziałów, uszeregowanych w następującej kolejności: Wstęp, Przegląd piśmiennictwa, Badania własne, Wyniki badań, Dyskusja, Podsumowanie, Streszczenie, Piśmiennictwo, Fotografie barwne i posiada zwartą i jednolitą strukturę. Układ pracy z takim podziałem na poszczególne rozdziały jest typowy dla prac o charakterze doświadczalnym i powszechnie stosowany. Ogólnie można przyjąć, że koncepcja i układ pracy są uzasadnione problematyką zamierzeń badawczych.

Poszczególne rozdziały spełniają kryteria wyodrębniania jako samodzielnych części podejmujących ważne aspekty całościowej problematyki.

5. Ocena merytoryczna rozprawy

„Wstęp” wprowadza czytelnika w obszar wiedzy objętej zakresem badań. Przeprowadzenie badań, omówienie wyników oraz wnioskowanie poprzedziły wnikliwe studia literaturowe, które pozwoliły Autorce na zgromadzenie i zacytowanie w pracy 310 pozycji z czego 85 to pozycje w języku polskim. Świadczy to o dobrej podbudowie teoretycznej pracy. Rozdział ten obejmuje łącznie 37 stron, jest opracowany dobrze, jasno, zwięźle i wyczerpująco, ściśle związany z charakterem prowadzonych badań. Autorka wykorzystała publikacje z zakresu różnych dziedzin nauki, co jest całkowicie zrozumiałe ze względu na interdyscyplinarność problematyki stanowiącej podstawowy przedmiot badań. Zastrzeżenia budzi tylko niejednolity sposób cytowania autorów informacji. W tym rozdziale pracy w większości podawany jest jeden autor artykułu choć ma on drugiego lub wielu współautorów (wg. rozdziału „Piśmiennictwo”). Według zasad podawania źródeł jeśli praca ma dwóch autorów, za każdym razem należy podawać oba nazwiska, jeżeli jest więcej autorów należy podać nazwisko tylko pierwszego z nich dodając skrót i in. lub współ. Poza tym nie wszyscy wymienieni w tekście autorzy publikacji zostali umieszczeni w rozdziale Piśmiennictwo np. Acker, 1996, Podsiadło, 2009, Schanchez-Moreno, 1995, 1998.

Rozdział „Badania Własne” został podzielony na podrozdziały tj.: hipotezę i cele badawcze w których Autorka podaje w jakim kierunku będą one prowadzone oraz metodykę badań.

Dobór metod badawczych odpowiada celowi pracy. Na uwagę zasługuje różnorodność metod stosowanych przez Autorkę. Obejmowały one:

1. Badania polowe prowadzone w latach 2009-2015 w dwóch miejscowościach na terenie południowo-wschodniej Polski (Jałowęsy, Felin – dzielnica Lublina), których celem było określenie wpływu genotypu (odmian) i nawożenia na plonowanie oraz jakość surowca bzu czarnego.

Materiał roślinny stanowiło pięć odmian uprawnych (‘Samil’, ‘Finn Sam’, ‘Samdal’, ‘Sampo’, ‘Haschberg’ oraz dwóch populacji miejscowych („Felin” i „Jałowęsy”) bzu czarnego. Ich charakterystykę Autorka przedstawiła w rozdziale „Metodyka badań”. Według mnie opis odmian jest jednak zbyt ogólny i nie poparty danymi liczbowymi.

Za niefortunne uważam na przykład sformułowanie dotyczące rozmiarów krzewów „składa się z krzewów o średnich rozmiarach” (str.46, 3 wers od góry), według mnie korzystniejsze byłoby:” odmiana tworzy się krzewy o średniej wielkości (podać zakres

wysokości)”. Poza tym stosowane w opisie odmian określenia takie jak: „średnia wysokość”, „duże liście”, „małe owoce” itp. nie stanowi konkretnej informacji, cechy te nie są wyrażone liczbowo i nie mówi nic o tym jaka jest ta średnia, duża lub mała wielkość.

W pierwszym doświadczeniu zastosowano coroczne od trzeciego roku wegetacji (tj. od wejścia roślin w fazę owocowania) zróżnicowane nawożenie mineralne NPK1 (10,91 kg P·ha⁻¹, 58,1 K·ha⁻¹, 60 kg N·ha⁻¹) oraz NPK2 (21,82 kg P·ha⁻¹, 116,2 K·ha⁻¹, 120,00 kg N·ha⁻¹) oraz nawożenie dolistne w postaci dwukrotnego oprysku preparatami: Fertileader Vital-954 (w dawce 5 l ha⁻¹ w 750 l wody·ha⁻¹) i Fertileader Gold-BMo 954 (w dawce 4 l ha⁻¹ w 750 l wody·ha⁻¹).

W drugim doświadczeniu przy zróżnicowanym nawożeniu (NPK1 i NPK2) wykonano trzy sposoby zbioru surowca: wyłącznie na kwiat, wyłącznie na owoc oraz na kwiat i owoc łącznie.

W metodyce pracy użyto określenia „ilość pędów” odnoszącą się do parametru policzalnego zamiast „liczba pędów” (str 47, 9 wers od góry).

Poza tym moim zdaniem zrozumienie metodyki doświadczeń polowych ułatwiło by zamieszczenie ich schematu, zaś przedstawienie tylko w sposób opisowy utrudnia dokładne zrozumienie jak przebiegała realizacja prac polowych np. ile było w sumie poletek doświadczalnych, co oznacza określenie „na pierwszej lub drugiej części poletek”, jaka była liczba roślin dla których stosowano wyliczone dawki nawozów?, z ilu roślin zbierano wyłącznie kwiaty lub owoce a z ilu przeprowadzono łączny zbiór?

2. Badania laboratoryjne obejmujące analizę soku ze świeżych owoców bzu czarnego, powietrznie suchych kwiatów, owoców bzu czarnego. Dotyczyły one określenia zawartości głównych grup związków biologicznie czynnych tj. polifenoli, antocyjanów, flawonoidów oraz aktywności antyoksydacyjnej, poza tym makro i mikrośladników części nadziemnych z wykorzystaniem różnych metod analitycznych.
3. Opłacalność uprawy bzu czarnego

Rozdział „Wyniki badań” stanowi najbardziej obszerny fragment pracy, ponieważ obejmuje 104 strony. Zaprezentowane wyniki są w postaci tekstu pisanego, uzupełnianego tabelami, rysunkami i fotografiami. Autorka szczegółowo prezentuje w nim zebrany materiał badawczy. Przedstawione w podrozdziałach „Wyniki” są wiarygodnym dowodem prawidłowo przeprowadzonych eksperymentów. Uzyskane wyniki są bardzo obszerne

i zróżnicowane, lecz wyraźnie podporządkowane nadrzędnemu celowi pracy związanemu z próbą określenia efektów zróżnicowanego dogłębowego nawożenia mineralnego i dolistnego, jak też sposobów zbioru dwóch rodzajów surowca (owoców i kwiatów).

Zaletą pracy jest podział na mniejsze podrozdziały co ułatwia z jednej strony prezentację wyników i ich omówienie, a także ich zrozumienie przez czytelnika. Przyczynia się do tego również umieszczenie przez Autorkę po prezentacji wyników doświadczeń I i II wniosków z nich wynikających.

Moje zastrzeżenia budzi opracowanie statystyczne wyników, które w pewnym stopniu utrudnia ich interpretację.

1. W tabelach podawany jest plon świeżej oraz powietrznie suchej masy ocenianych surowców i innych parametrów w kilogramach na roślinę jak również w tonach na hektar. O ile przedstawienie za pomocą obu sposobów zwiększa czytelność i jest dobrym podejściem, to nie ma sensu przeprowadzać analizy statystycznej obu wartości, gdyż jedno zależy od drugiego.
2. W tabelach przedstawiono jedynie wyniki analizy wariancji (to określa, że przynajmniej jedna średnia się różni), nie przedstawiono natomiast wyników testu post-hoc, który by wykazał, które średnie różnią się od których (istotnie statystycznie). Ponieważ nie został przeprowadzony podział na grupy jednorodne i nie można określić, że jedna np. odmiana jest lepsza od innych. W przedstawionych wynikach wartości mogą wydawać się wyższe od innych, ale nie wiemy czy jest to różnica istotna statystycznie.
3. Analiza wariancji mówi nam jedynie, że przynajmniej jedna średnia jest istotnie różna statystycznie, dopiero jeśli wykazana jest taka różnica, możemy przeprowadzić test post-hoc, który porówna każdą średnią z innymi i powie nam która średnia różni się od której (podział na grupy jednorodne).
4. Pod tabelą widnieje słowo NIR. Test NIR (Najmniejsza Istotna Różnica) jest pierwszym powstałym testem post-hoc. W przypadku testu Tukey'a powinno być RIR (Rozsądna Istotna Różnica). Tak czy inaczej przy tych testach brakuje wartości liczbowych.
5. Rozpatrywano jedynie interakcje podwójne. Nie wiem czemu nie brano pod uwagę interakcji wyższych poziomów.
6. Opis analizy statystycznej jest dość krótki (jeden krótki akapit na str. 51). Co do opisu dotyczącego analizy wariancji nie mam większych uwag. Co do korelacji tak. Napisano, że liczone korelacje proste, na pewno chodzi o współczynnik korelacji

Pearsona, ale istnieje też współczynnik korelacji rang Spearmana stosowanych do zmiennych jakościowych lub porządkowych, ale również gdy wyniki są odstające. Moim zdaniem dobrze by to było doprecyzować.

Autorka przedstawionej do recenzji dysertacji w swoich badaniach wykazała, że wzrastające dawki nawożenia doglebowego istotnie zwiększały plon owoców oraz kwiatów bzu czarnego. Odmianami wyróżniającymi się pod względem plonowania okazały się 'Samił' w przypadku zbioru wyłącznie na kwiat oraz 'Haschberg' i 'Samdal' dla zbioru łącznego na kwiat i owoc. Poza tym stwierdziła, że nawożenie mineralne pozytywnie wpływa na oceniane parametry biometryczne zarówno kwiatostanów, jak i owocostanów. Nawożenie dolistne stosowane wyłącznie, jak również łącznie z mineralnym, również przyczyniło się do polepszenia badanych cech owoców.

Wyniki uzyskane w badaniach laboratoryjnych są ważnym, tak wszechstronnie udokumentowanym przyczynkiem do określenia wpływu nawożenia mineralnego i sposobu zbioru na jakość soku z owoców bzu czarnego i pozyskiwanego surowca.

Szczegółowe badania analityczne wykazały, że największą produktywnością soku odznaczają się odmiany 'Sampo', 'Finn Sam', 'Sandal' a najniższą 'Haschberg'. Nawożenie w zróżnicowany sposób wpłynęło na tę cechę, jak również na pH i zawartość kwasów organicznych w soku.

Dużą wartość poznawczą wydają się mieć także przedstawione w pracy wyniki badań dotyczących zawartości związków biologicznie aktywnych. Analizy chemiczne (przy zastosowaniu różnych metod analitycznych) obu surowców wykazały znaczną zawartość w nich tych związków. Kwiat bzu czarnego spełnił wymagania farmakopealne, zaś owoc i otrzymany z nich sok zawierał porównywalną z innymi badaniami krajowymi i zagranicznymi ilość związków czynnych. Autorka wykazała, że jakość chemiczna ocenianych surowców zależała od nawożenia mineralnego: zawartość antocyjanów w owocach bzu czarnego oraz soku była największa w przypadku roślin stanowiących kontrolę, natomiast odmienną zależność Autorka stwierdziła w przypadku kwiatów, gdyż nawożenie mineralne istotnie zwiększyło zawartość flawonoidów.

Istotnym elementem badań przeprowadzonych w niniejszej rozprawie są badania dotyczące właściwości antyoksydacyjnych kwiatów, owoców oraz soku z bzu czarnego. Nawożenie mineralne zarówno doglebowe jak i dolistne przyczyniło się do zmniejszenia tych właściwości soku, natomiast w przypadku kwiatów zwiększyło ich moc antyoksydacyjną.

Autorka w swoich badaniach poza standardową oceną surowca podjęła próbę określenia opłacalności uprawy bzu czarnego. Uzyskane w tym zakresie wyniki okazały się bardzo obiecujące szczególnie w przypadku uprawy na owoc, zaś najmniej wyłącznie na kwiat, co wynika z wysokich kosztów poniesionych na otarcie kwiatostanów. Poza tym w uprawie tej rośliny należy brać pod uwagę czynniki pogodowe, gdyż w latach chłodnych plony surowców mogą być istotnie niższe.

Prawidłowo i w sposób przejrzysty zostały napisane kolejne rozdziały pracy, a mianowicie: „Dyskusja” (16,5 stron tekstu) i „Podsumowanie” (2 strony tekstu). Rozdział „Dyskusja” oceniam wysoko, gdyż świadczy on o umiejętności Autorki do właściwego interpretowania uzyskanych wyników w nawiązaniu do literatury światowej z tego zakresu.

Autorka na zakończenie swojej rozprawy doktorskiej przedstawia podsumowanie wszystkich rozdziałów, w celu przypomnienia omawianych zagadnień oraz potwierdzenia postawionych wcześniej hipotez i celów.

Pragnę podkreślić, że pomimo pewnych krytycznych uwag, nie znajduję w niniejszej pracy żadnych wyraźnych niedociągnięć czy uchybień wpływających na ocenę pracy.

Do ważniejszych osiągnięć Doktorantki w ocenianej rozprawie doktorskiej zaliczam:

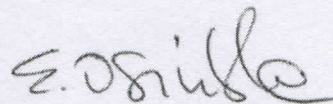
1. Określenie wpływu zabiegów agrotechnicznych, genotypu oraz warunków agrometeorologicznych na plonowanie, jakość kwiatów i owoców bzu czarnego tej znanej i lecz w dalszym ciągu niedocenianej rośliny.
2. Określenie wyróżniających się pod względem cech użytkowych odmian bzu czarnego do uprawy w warunkach Polski południowo- wschodniej.
3. Określenie zakresu zmienności w zawartości najważniejszych związków biologicznie aktywnych wpływających na właściwości antyoksydacyjne surowca (kwiatów i owoców) oraz soku z owoców bzu czarnego..
4. Przedstawienie efektów finansowych uprawy bzu czarnego w zależności od rodzaju zbieranego surowca oraz opłacalności uprawy towarowej tego gatunku.

6. Konkluzja

Reasumując uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pt. „Wpływ genotypu oraz wybranych czynników agrotechnicznych na plony i jakość surowca bzu czarnego (*Sambucus nigra* L.)” jest opracowaniem wartościowym i oryginalnym, którego przygotowanie wymagało od Autorki dużego wysiłku badawczego. Mam też nadzieję, że przedstawione w recenzji krytyczne uwagi zostaną przez Doktorantkę właściwie odebrane a

wskazane niedociągnięcia zostaną wyeliminowane w przypadku ewentualnej publikacji zarówno całej pracy, jak i jej fragmentów.

Dlatego, biorąc pod uwagę ważność problemu badawczego, któremu jest poświęcona oceniana rozprawa, oryginalną koncepcję przedstawionych badań, przeprowadzone poprawnie doświadczenia wymagające opanowania nowoczesnych metod badawczych i uzyskanie oryginalnych wyników wskazujących na potwierdzenie stawianych celów stwierdzam, że rozprawa doktorska odpowiada warunkom określonym w art. 13 ust. 1 Ustawy 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) zwracam się do Rady Wydziału Agrobiotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr Katarzyny Luchowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof.dr hab. Ewa Osińska