

Dr hab. inż. Magdalena Jastrzębska, prof. UWM  
Katedra Agroekosystemów i Ogrodnictwa  
Wydział Rolnictwa i Leśnictwa  
UWM w Olsztynie

**Ocena**  
**rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Łukasz**  
**pt. Ocena poziomu odporności miotły zbożowej (*Apera spica-venti* (L.) P.B.) na wybrane substancje**  
**aktywne herbicydów**

Ocenę wykonano na zlecenie Rady Dyscypliny *Rolnictwo i Ogrodnictwo* Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (Uchwała z dnia 29 listopada 2023 r.) przedłożone pismem jej Przewodniczącej, Pani prof. dr. hab. Barbary Kołodziej (RDRiO/5100/os/2023 z dnia 30 listopada 2023 r.).

Praca doktorska została zrealizowana w Katedrze Herbologii i Technik Uprawy Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem dr hab. Małgorzaty Haliniarz, prof. uczelni, z tejże jednostki naukowej, przy wsparciu dr inż. Marty Stankiewicz-Kosyl z Katedry Ochrony Roślin Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, jako promotora pomocniczego.

Tematyka przedłożonej do oceny rozprawy ściśle wpisuje się w dziedzinę nauk rolniczych i dyscyplinę naukową *rolnictwo i ogrodnictwo*. Wychodzi ona naprzeciw narastającemu problemowi ewolucji odporności chwastów na herbicydy, który pojawił się we współczesnym rolnictwie i z którym coraz częściej muszą mierzyć się również rolnicy wykorzystujący te agrochemikalia do ochrony plonu roślin uprawnych w Polsce. W monitorowaniu pojawów odporności, rozpoznaniu jej mechanizmów i typów Autorka widzi podstawę do podjęcia działań zapobiegawczych rozwojowi tego zjawiska. Doktorantka bierze pod lupę miotłę zbożową (*Apera spica-venti* (L.) P.Beauv), gatunek o dużej konkurencyjności i plenności, którego szkodliwość wzmacnia dodatkowo podobieństwo morfologiczne siewki do młodej rośliny pszenicy i synchronizacja cyklu rozwojowego z cyklem roślin zbożowych. Kandydatka skupia się na identyfikacji braku wrażliwości populacji tego gatunku na substancje aktywne z grupy inhibitorów syntazy acetylomleczanowej (ALS), inhibitorów karboksylazy acetylokoenzymu A (ACCazy), inhibitorów fotosyntezy fotosystemu II (PSII) oraz inhibitorów tworzenia mikrotubuli, które są powszechnie stosowane w kraju do zwalczania miotły zbożowej, a odnośnie do których w ostatnim czasie pojawiają się informacje o nieskuteczności działania. Mgr J. Łukasz zawęży teren badań do wschodniej części kraju, tj. województw lubelskiego i podlaskiego, skąd zgromadzono relatywnie niewiele dowodów weryfikujących sygnały o potencjalnej odporności tego gatunku. Przesłanki do podjęcia badań uważam zatem za jak najbardziej uzasadnione. Dodatkowo Doktorantka stawia sobie zadanie rozpoznania genetycznych mechanizmów odporności u wybranych populacji oraz wskazania praktyk rolniczych sprzyjających rozwojowi odporności miotły zbożowej na herbicydy.

Kandydatka formułuje cel badań, który odzwierciedla zdefiniowany wyżej problem badawczy, a następnie stawia hipotezę, że na terenie badanych województw występują populacje *Apera spica-venti* odporne na badane substancje aktywne, a najwięcej populacji charakteryzuje się odpornością na inhibitory ALS. Na podstawie analizy struktury zasiewów oraz informacji uzyskanych od rolników przyjmuje również założenie, że na terenie województwa lubelskiego występuje więcej odpornych na herbicydy populacji miotły zbożowej (nasuwającą się wątpliwość przedstawię później).

Do rozwiązania podjętego problemu badawczego posłużyły prace terenowe (pobieranie prób diaspor), badania ankietowe, testy biologiczne w warunkach szklarniowych oraz analizy molekularne. Takie wielopoziomowe podejście do problemu jest jednym z ważniejszych atrybutów całego przedsięwzięcia naukowego. Na podstawie badań ankietowych obliczono wskaźniki częstości

stosowania poszczególnych substancji czynnych w herbicydach wykorzystywanych przez rolników w ciągu ostatnich 2 lub 3 lat w przeliczeniu na populację odporną (PT), a na podstawie biotestów w szklarniach wyznaczono dawki efektywne herbicydów ( $ED_{50}$ ) i współczynniki odporności (RI) populacji miotły zbożowej. Analizy molekularne posłużyły do stwierdzenia obecności lub braku mutacji warunkujących odporność na wybrane herbicydy. Finalnie, przestrzenny rozkład zidentyfikowanych na obszarze badań stanowisk, w których potwierdzono wystąpienie odpornych na herbicydy populacji *Apera spica-venti* przedstawiono na mapach regionu.

Postawienie problemu badawczego, propozycja jego rozwiązania, zakres podjętych badań szczegółowych i zastosowane metody nie budzą większych zastrzeżeń, a uzyskany zasób wyników uważam za absolutnie wystarczający do opracowania rozprawy doktorskiej.

Przedłożona rozprawa została przygotowana w formie manuskryptu według znanych wzorców. Manuskrypt ten obejmuje 139 stron, łącznie ze spisem piśmiennictwa (218 pozycji), zestawieniem dokumentacji tabelarycznej (19 tabel) i graficznej (17 fotografii, 23 wykresy, 3 mapy, 1 rysunek) oraz załącznikiem. Należy podkreślić, że wspomniana dokumentacja wyników badań została przygotowana bardzo starannie, a przy tym umieszczona w korespondujących partiach tekstu, co ułatwia studiowanie manuskryptu. Dołączony materiał fotograficzny uwiarygadnia uzyskane efekty badań i urozmaica maszynopis. Na uwagę zasługuje również zestaw piśmiennictwa, w którym Autorka szukała podparcia badań własnych; jest on nie tylko liczny, ale też o szerokim zakresie czasowym (1949-2023). Znaczący udział (56%) przypada w nim na tytuły obcojęzyczne (głównie w jęz. angielskim), opublikowane w czasopismach o zasięgu światowym. Dobór bibliografii załącznikowej nie budzi zastrzeżeń, jest ściśle związany z tematyką badawczą.

Układ pracy jest standardowy. Wyróżniono 9 podstawowych części, a mianowicie: 1. *Wstęp i przegląd piśmiennictwa*, 2. *Cel i hipoteza badań*, 3. *Charakterystyka obszaru badań*, 4. *Materiał i metody badań*, 5. *Omówienie wyników badań*, 6. *Dyskusja*, 6. *Stwierdzenia i wnioski*, 8. *Piśmiennictwo*, 9. *Spis fotografii, map, rysunków, tabel i wykresów*. Na początku manuskryptu zamieszczono również streszczenia pracy w języku polskim i angielskim.

Rozdział *Wstęp i przegląd piśmiennictwa* to obszerne, bo aż 43-stronicowe kompendium informacji na temat biologii i ekologii miotły zbożowej, metod jej zwalczania, jak też odporności gatunków chwastów na herbicydy w ujęciu teoretycznym i statystycznym, z uwypukleniem odporności przedmiotowego gatunku na terenie Polski. Dla nadania temu rozdziałowi większej przejrzystości, Autorka dzieli go na podrozdziały pierwszego, drugiego i trzeciego rzędu, w których merytorycznie porządkuje interesujące ją wątki światowych i krajowych badań. Ta część pracy jest może nawet zbyt drobiazgową, ale jednoznacznie dowodzi, że Doktorantka gruntownie i dociekliwie przestudiowała dostępną przedmiotową literaturę i nabyła wiedzę dającą gwarancję rozwiązania postawionego problemu.

W osobnym krótkim rozdziale Mgr J. Łukasz prezentuje cel badań i w jego kontekście stawia hipotezę badawczą. Takie wyakcentowanie tych elementów pracy jest rozwiązaniem jak najbardziej trafnym, choć odmiennym od często spotykanego połączenia wstępu i celu badań, pod warunkiem jednak, że w poprzedzających taki rozdział częściach (*Wstęp* lub *Wstęp i przegląd piśmiennictwa*) znajdzie się dobrze wyświetlone uzasadnienie podjętych badań. Uwagi do tego rozdziału przedstawię w dalszej części recenzji.

W części trzeciej pracy, zatytułowanej *Charakterystyka obszaru badań*, Autorka przybliży potencjał przyrodniczy województw objętych zainteresowaniem oraz wybrane wyróżniki produkcji roślinnej w tych jednostkach administracyjnych na tle kraju. Rozdział ten pozwala osadzić prowadzone badania w regionalnej rzeczywistości rolniczej.

Rozdział *Materiał i metody* badań został podzielony na podrozdziały pierwszego i drugiego rzędu, w których Autorka opisuje sposób pobierania i ewidencjonowania prób diaspory miotły zbożowej, warunki i metody testów biologicznych i molekularnych oraz sposób opracowania pozyskanych danych. Generalnie zawiera on niezbędne informacje, jednak nasuwa mi się kilka uwag dotyczących przejrzystości tego rozdziału, a także kilka pytań (te przedstawię w dalszej części oceny).

Główną część dysertacji stanowi rozdział *Omówienie wyników badań*. Obejmuje on 37 stron i jest podzielony na 5 podrozdziałów głównych, z których jeden zawiera podpunkty niższego rzędu. Podział ten jest wprawdzie osadzony w zakresie badań, ale kolejność podrozdziałów i ich tytuły nie są dla mnie w pełni logiczne (szczegóły później). Po stronie pozytywów tego rozdziału trzeba wskazać, że wyniki zostały omówione w sposób rzetelny i wnikliwy.

Konfrontację efektów obserwacji i badań własnych z doniesieniami innych autorów zamieściła Doktorantka na 11 stronkach osobnego rozdziału *Dyskusja*. Jest to bardzo trafne rozwiązanie formalne, chociaż niewątpliwie trudniejsze w porównaniu do odnośników dodawanych przy okazji omawiania wyników. Taka forma dyskusji pozwala na dokonanie syntezy uzyskanych wyników i kompleksowe ujęcie zagadnień, a jednocześnie na umiejscowienie rezultatów badań własnych w odpowiednich obszarach już istniejącej tematycznej wiedzy. Wymaga ona od piszącego większej naukowej dojrzałości. Autorka dysertacji w dużej mierze taką dojrzałością się wykazała, chociaż nie uniknęła zbytnej drobiazgowości.

W rozdziale *Stwierdzenia i wnioski* Mgr J. Łukasz podsumowuje uzyskane wyniki badań formułując 7 punktów. Punkty te są bardzo obszerne i faktycznie mają raczej charakter stwierdzeń niż wniosków, ale odpowiadają na cel badań i wpisują się w rozwiązanie postawionego problemu badawczego.

Do najbardziej interesujących osiągnięć, które są wkładem własnym Autorki w badania nad odpornością chwastów na herbicydy należy zaliczyć:

- potwierdzenie występowania we wschodniej Polsce biotypów miotły zbożowej odpornych na herbicydy, zwłaszcza inhibitory ALS i inhibitory ACCazy, chociaż stopień odporności u badanych populacji był zróżnicowany;
- potwierdzenie występowania w przedmiotowym regionie biotypów miotły zbożowej o odporności wielokrotnej na herbicydy;
- poznanie molekularnego mechanizmu odporności miotły zbożowej na jodosulfuron metylosodowy, przykładowy herbicyd z grupy inhibitorów ALS;
- potwierdzenie związku pojawów u populacji miotły zbożowej odporności na inhibitory ALS i ACCazy z częstotliwością stosowania tych substancji aktywnych oraz z dominacją pszenicy ozimej w strukturze zasiewów;
- sporządzenie map przestrzennego rozmieszczenia biotypów miotły zbożowej odpornej na herbicydy w regionie objętym badaniami.

Obowiązkiem recenzenta jest wskazanie w rozprawie tych kwestii, które budzą wątpliwości, wymagają poprawienia, wyjaśnienia lub przemyślenia, a potem ewentualnie dopracowania przed przygotowaniem pracy do publikacji w czasopiśmie naukowym. Wprawdzie mój odbiór pracy jest bardzo pozytywny, jednak w trakcie jej studiowania nasunęło mi się kilka uwag o charakterze krytycznym lub dyskusyjnym. Są one następujące:

1. W tytule pracy powinien być wskazany region objęty badaniami.
2. W moim przekonaniu, celniejszym formalnym rozwiązaniem byłoby rozdzielenie wstępu i przeglądu piśmiennictwa, a przy tym – właśnie we wstępie – lepsze naświetlenie problemu badawczego i

uzasadnienie celowości podjęcia badań. Obecnie, to uzasadnienie wyboru substancji aktywnych herbicydów i obszaru badań umyka czytelnikowi wśród wielu informacji. Alternatywnym rozstrzygnięciem mogłoby być podsumowanie tego obszernego rozdziału, z wyakcentowaniem potrzeby podjęcia tych konkretnych badań.

3. Inne uwagi do rozdziału *Wstęp i przegląd piśmiennictwa*:
  - a. Niezależnie od cennej zawartości rozdziału, jego odbiór byłby łatwiejszy, gdyby informacje zaprezentowano w bardziej zwartej, syntetycznej formie.
  - b. W podrozdziale 1.2.3. *Czynniki powstawania odporności*, nieadekwatnie do jego tytułu, dużo miejsca poświęcono analizie działań ograniczających powstawanie u chwastów odporności na herbicydy (patrz str. 28-31).
4. W sformułowanym celu badań wkradła się pewna niezręczność. Chodzi o zapis, że celem badań było także „scharakteryzowanie praktyk rolniczych na polach, na których występowała miotła zbożowa odporna na herbicydy”. Domyślam się, że intencją Autorki było wykazanie związków (zależności przyczynowo-skutkowych) między pojawami odporności u roślin tego gatunku a praktykami rolniczymi realizowanymi na tych polach. Podobnie, niezręczny zapis znajduje się w hipotezie badawczej: „...założono, że na terenie województwa lubelskiego występuje więcej odpornych na herbicydy populacji miotły zbożowej” (pytanie: więcej od czego? więcej niż w woj. podlaskim?).
5. Uwagi dotyczące rozdziału *Materiał i metody badań*:
  - a. Jako pierwsze ciśnie się pytanie, jak zbierano sygnały o trudnościach w zwalczaniu miotły zbożowej na obszarze badawczym? Czy było prowadzone jakieś wstępne rozeznanie w terenie? Jakimi metodami (wywiady, ankiety) i w jakim czasie (z ilu lat sygnały)? Te informacje powinny znaleźć się w osobnym podrozdziale.
  - b. Rozdział ten byłby bardziej przejrzysty, gdyby informacje w nim zaprezentowano w nieco innym, bardziej usystematyzowanym układzie, między innymi:
    - i. Rozpoczęcie od zaprezentowania ogólnego schematu strategii badań (może graficznego?), z wyszczególnieniem etapów przedsięwzięcia oraz wskazaniem metod ich realizacji bardzo ułatwiłoby percepcję całej koncepcji projektu.
    - ii. Każdy podrozdział z kolei powinno się rozpoczynać od informacji jaką zmienną/cechę wyznaczano (co badano), a potem opisywać sposoby wyznaczania i wykorzystane narzędzia. Dla przykładu, podrozdział 4.3. *Analiza molekularna...* rozpoczyna się od nazwy Instytutu wykonującego badania, a informacja czemu ta analiza miała służyć znajduje się dopiero na końcu tej części pracy.
    - iii. Przejrzystość zwiększyłoby wygenerowanie osobnych podrozdziałów dla opisu procedur:
      - badań ankietowych (tu winna znaleźć się również informacja o liczbie ankiet, którą zamieszczono w omówieniu wyników);
      - wyznaczania wskaźników PT i RI (z odpowiednimi uzupełnieniami).
    - iv. Tytuł podrozdziału *Testy biologiczne w szklarniach* jest zbyt mało informatywny. Powinien on jasno wskazywać na identyfikację biotypów odpornych metodą testów biologicznych, a charakterystyka testowanych herbicydów, warunki badań, testy wstępne i szczegółowe powinny stanowić podrozdziały niższego rzędu.
  - c. Uzupełnienia lub wyjaśnień oczekiwać można w następujących kwestiach:
    - i. Jak pobierano próby ziarniaków (z ilu miejsc na polu, z ilu roślin), jakiej wielkości były próby, co konkretnie zawierała etykieta. Dobrze widziane byłoby również dołączenie do manuskryptu mapy wyjściowej rozkładu przestrzennego miejsc próbkowania oraz zestawienia tabelarycznego prób z ogólnymi informacjami o ich pochodzeniu

(województwo, roślina uprawna, itp.) w formie załączników; jest to tym bardziej zasadne, że w tekście i tabelach rozdziału *Omówienie wyników badań* Autorka odwołuje się do konkretnych symboli numerycznych populacji.

- ii. Na str. 59 Autorka napisała: „*Do przeprowadzenia testów biologicznych używano nasion o wysokiej zdolności kiełkowania*”. Jak tę zdolność określano?
  - iii. Dlaczego stosowano odmienne podłoże (materiał glebowy) dla testów z herbicydami doglebowymi i dolistnymi?
  - iv. Co stanowiło obiekt kontrolny dla zabiegów herbicydowych: brak opryskiwania (patrz str. 60) czy opryskiwanie wodą destylowaną (patrz str. 61)?
  - v. Czy zapis w formule wskaźnika PT „*liczba populacji odpornych*” dotyczy populacji potencjalnie odpornych, czy już o odporności zidentyfikowanej w testach biologicznych?
  - vi. Zdefiniowania wymaga pojęcie „*dawka efektywna (ED<sub>50</sub>)*”, a sposób jej wyznaczania – bardziej dokładnego wyjaśnienia (informacja o wykorzystanych narzędziach, tj. programach komputerowych, powinna znaleźć się na końcu odnośnego wywodu).
  - vii. Dlaczego analizę molekularną zastosowano do rozpoznania mechanizmu odporności miotły tylko na jedną substancję czynną?
6. Uwagi do rozdziału *Omówienie wyników badań*:
- a. Podrozdziały 5.1. (*Badania ankietowe*) i 5.4. (*Analiza molekularna genu syntazy acetylomleczanowej wybranych populacji *Apera spica-venti* (L.) P.B.*) powinny mieć inne tytuły, odnoszące się nie do metody badawczej (jak obecnie), ale do zmiennych/cech, które tą metodą wyznaczono, a które są w nich omawiane.
  - b. Kontrowersyjne jest używanie w podrozdziale 5.1. (*Badania ankietowe*) określenia „*populacje odporne*”. Czy faktycznie były to biotypy o potwierdzonej już odporności, czy tylko potencjalnie odporne? Rozróżnienie między populacjami odpornymi i potencjalnie odpornymi powinno być ewidentne w całej pracy.
  - c. Szkoda, że związek pojawów odporności z warunkami siedliskowymi i stosowanymi praktykami nie został podparty analizą statystyczną, np. analizą korelacji lub jedną z metod wielowymiarowej analizy statystycznej (np. analizą głównych składowych – PCA, czy analizą skupień). Wnioskowanie na ten temat znalazłoby w nich silniejsze uwiarygodnienie.
  - d. Tytuły rozdziału 5.2. i podrozdziałów 5.2.1-5.2.3 można by odciążyć, usuwając z tego pierwszego informację o województwach (teren badań został określony wcześniej), a te kolejne zredukować do nazw grup substancji aktywnych. Racjonalne wydaje się również rozdzielenie podrozdziału 5.2.3 na dwa (przyjmując jednolity klucz do ich wyróżnienia).
  - e. Tytuł podrozdziału 5.5. powinien raczej brzmieć „*Przestrzenne rozmieszczenie...*”
7. W rozdziale *Dyskusja* zamieszczono wiele informacji o charakterze ogólnym, z których – z uwagi na bardzo obszerny przegląd piśmiennictwa – można już było zrezygnować.
8. Wywiedzione wnioski w przedłożonej formie mają charakter stwierdzeń składających się na streszczenie prowadzonych badań. Przed opublikowaniem należałoby je sprowadzić do formy krótkich, rzeczowych uogólnień. Unikać należy podawania we wnioskach wartości liczbowych (jeśli nie mają charakteru uniwersalnego).
9. Swoistym zwieńczeniem rozprawy byłoby wypunktowanie implikacji praktycznych wynikających z naukowych ustaleń. Te implikacje, wprowadzone w rozproszonej formie, Autorka sygnalizowała w rozdziale *Dyskusja*.

10. Doktorantka nie ustrzegła się pewnych niekonsekwencji w stosowanym nazewnictwie, niefortunnych sformułowań, potknięć stylistycznych czy edycyjnych, które należy zweryfikować w trakcie przygotowania materiału do publikacji. Ważniejsze z nich wskazuję poniżej:

- a. Brak konsekwencji w stosowaniu nazw gatunków chwastów. Dobrą praktyką naukową jest stosowanie w publikacjach nazw łacińskich gatunków roślin;
- b. Użyte w badaniach herbicydy podzielono na doglebowe i powschodowe, a to kategorie dwóch różnych klasyfikacji (wg różnych kryteriów). Zapewne chodziło o doglebowe i dolistne, ale należy to doprecyzować przed publikacją.
- c. Wszelkie stosowane skróty należy objaśniać przy pierwszym użyciu, jak również podawać pełną nazwę w języku angielskim, jeśli skrót pochodzi z tego języka (np. R, S, VEB),
- d. Symbolem „r” określano raz populację o zmniejszonej podatności, a innym razem o zmniejszonej wrażliwości. Trzeba zachować konsekwencję, gdy raz symbol zdefiniowano.
- e. Objaśnienia oznaczeń użytych w tabelach najlepiej podawać pod tabelami (nie w tytule tabeli – patrz np. tabela 2).
- f. Zweryfikować należy zwłaszcza takie niefortunne sformułowania, jak: *„populacje Apera spica-venti odporne na inhibitory ALS (HRAC 2) odznaczały się zróżnicowanym stopniem wrażliwości...”* (patrz wniosek 3), czy *„populacje Apera spica-venti odporne na pinoksaden (HRAC 1) charakteryzowały się zmniejszoną wrażliwością (r) na tę substancję aktywną...”* (wniosek 4).

Przedstawione uwagi mają w przeważającej części charakter sugestii, dając podstawę do dyskusji w trakcie obrony rozprawy. Wskazane drobne usterki nie umniejszają wartości pracy. W moim przekonaniu Mgr J. Łukasz nabyła wiedzę teoretyczną i umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych, rozwiązała problem badawczy i wypełniła postawione cele. Przedłożona przez nią dysertacja pod względem merytorycznym i formalnym spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim w świetle obowiązujących przepisów o stopniach naukowych i tytule naukowym. Upoważnia to jej Autorkę do ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie *rolnictwo i ogrodnictwo*.

**Wnioskuje do Rady Naukowej dyscypliny *rolnictwo i ogrodnictwo* Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie Mgr Justyny Łukasz do dalszego etapu przewodu doktorskiego, czyli do publicznej obrony rozprawy. Biorąc pod uwagę walory poznawcze rozprawy, jej ogromne znaczenie dla praktyki rolniczej oraz wysoki poziom naukowy proponuję również wyróżnić jej Autorkę stosowną nagrodą.**

Olsztyn, 5 lutego 2024



Magdalena Jastrzębska