

dr hab. inż. Roman Waclawowicz, prof. nadzw.
Instytut Agroekologii i Produkcji Roślinnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław, 14.02.2024 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgr inż. Justyny Łukasz**, pt.:

**„Ocena poziomu odporności miotły zbożowej
(*Apera spica-venti* (L.) P.B.) na wybrane substancje aktywne herbicydów”**

wykonanej pod kierunkiem:

Promotor: dr hab. inż. Małgorzaty Haliniarz, prof. uczelni

Promotor pomocniczy: dr inż. Marty Stankiewicz-Kosyl

Recenzję przygotowano na zlecenie Pani prof. dr hab. Barbary Kołodziej, Przewodniczącej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 30.11.2023 roku (nr uchwały RDRiO/5100/os/2023).

1. Ocena zasadności przeprowadzonych badań

We współczesnym rolnictwie zjawisko występowania chwastów odpornych na herbicydy stanowi poważne zagrożenie zarówno dla plonów roślin uprawnych, jak i dla agroekosystemu. W przedłożonej rozprawie doktorskiej Pani mgr inż. Justyna Łukasz przedstawiła wyniki podjętego przez siebie aktualnego, choć niełatwego do realizacji, problemu badawczego. Autorka scharakteryzowała miotłę zbożową pod względem morfologicznym i biologicznym, opisała rejony występowania tego chwastu oraz wskazała jakie są możliwości jego zwalczania. Wykazując świadomość gwałtownego wzrostu liczebności *Apera spica-venti*, gatunku uciążliwego i ekspansywnego, wynikającego z dużego udziału zbóż w strukturze zasiewów oraz rosnącej liczby populacji odpornych na herbicydy, podjęła się niełatwego zadania, polegającego na ocenie stopnia odporności miotły zbożowej na najczęściej stosowane substancje aktywne z grupy inhibitorów syntazy acetylmleczanowej (ALS), inhibitorów karboksylazy acetylokoenzymu A (ACCazy) inhibitorów fotosyntezy fotosystemu II (PSII) oraz inhibitorów tworzenia mikrotubuli. Wiedza na temat rodzaju odporności występującej w osobnikach danej populacji może być pomocna w opracowaniu strategii jej zwalczania. Swoje badania dr inż. Justyna Łukasz oparła o imponującą liczbę 113 populacji *Apera spica-venti* występujących w rejonach południowo-wschodniej Polski. Autorka podjęła udaną próbę wyjaśnienia problemów związanych z odpornością chwastów. Ważnym zagadnieniem poruszonym w dysertacji jest charakterystyka odporności chwastów na

herbicydy w świecie i w Polsce. Przeprowadzenie testów biologicznych populacji miotły zbożowej potencjalnie odpornej na herbicydy i ustalenie na ich podstawie dawki efektywnej (ED_{50}) oraz współczynnika RI pozwoliło na określenie poziomów odporności badanych populacji miotły. Z kolei analiza molekularna wybranych populacji miotły zbożowej umożliwiła ustalenie mechanizmu odporności, który w istotny sposób wpływa na stopień odporności. Wiedza na temat rodzaju odporności może być pomocna podczas wyboru sposobu regulacji zachwaszczenia.

Wartością dodaną pracy jest przeprowadzenie badań ankietowych, w których Autorka ustaliła zależność występowania odpornych populacji *Apera spica-venti* od gatunku rośliny uprawnej, klasy gleby, systemu uprawy oraz przedplonu, a także częstotliwość stosowania tych samych substancji czynnych w dwóch lub trzech sezonach wegetacyjnych. Zagadnieniem opracowanym przez autorkę, mającym duże znaczenie użytkowe jest charakterystyka praktyk rolniczych na polach, na których występuje miotła zbożowa odporna na herbicydy.

Podsumowując, wysoko oceniam trafność wyboru tematyki badawczej przez mgr inż. Justynę Łukasz. Doktorantka w przedłożonej rozprawie doktorskiej przedstawiła ważne zagadnienia z naukowego i praktycznego punktu widzenia. Wpisują się one w ideę zrównoważonego rozwoju i mogą przyczynić się do skuteczniejszej ochrony roślin uprawnych przez chwastami oraz do ograniczenia zużycia środków ochrony roślin. Takie działania sprzyjają polepszeniu jakości płodów rolnych oraz walorów środowiska przyrodniczego. Podjęcie wyjaśnienia poruszonych zagadnień uważam za ważne i w pełni uzasadnione.

2. Struktura pracy i ocena formalna

Rozprawa doktorska obejmuje łącznie 139 stron. Składa się z 9. rozdziałów głównych: Wstęp i przegląd piśmiennictwa, Cel i hipoteza badań, Charakterystyka obszaru badań, Materiał i metody badań, Omówienie wyników, Dyskusja, Stwierdzenia i wnioski, Piśmiennictwo oraz Spis fotografii, map, rysunków i wykresów. Rozdziały: Wstęp i przegląd piśmiennictwa, Materiał i metody badań oraz Omówienie wyników badań zawierają podrozdziały pierwszego i kolejnych rzędów. Taka struktura czyni opracowanie pod względem formy logicznym i czytelnym oraz jednocześnie dobrze świadczy o opanowaniu przez Doktorantkę niełatwej sztuki pisania prac naukowych. W dysertacji zamieszczono 17 fotografii, 3 mapy, 1 rysunek, 19 tabel oraz 23 wykresy, które ilustrują warunki i wyniki przeprowadzonych badań. Dodatkowo Autorka zamieściła streszczenie w języku polskim i angielskim. Bibliografia obejmuje 218 pozycji, dobrze dobranej literatury przedmiotu. Układ pracy jest logiczny, natomiast kolejność rozdziałów poprawna i typowa dla opracowań naukowych.

3. Merytoryczna ocena pracy

Tytuł pracy – „Ocena poziomu odporności miotły zbożowej (*Apera spica-venti* (L.) P.B.) na wybrane substancje aktywne herbicydów” oddaje istotę i zakres badań.

Wstęp i przegląd piśmiennictwa - rozdział ten liczy 42 stron znormalizowanego tekstu. Zawarte w nim treści bezpośrednio nawiązują do tematyki badań własnych, spełnione są zatem metodologiczne założenia pracy naukowej. Ta część dysertacji wskazuje na bardzo dobre rozpoznanie tematu i szeroką wiedzę Autorki. Informacje ujęte w tym rozdziale, wynikają z dogłębnie przeprowadzonego studium literaturowego, z licznie i poprawnie cytowanymi pozycjami źródłowymi. Rozdział ten zapoznaje czytelnika z tematyką podjętych badań. Autorka wskazała na właściwości morfologiczne i biologiczne miotły, jej występowanie w zależności od klimatu, warunków glebowych, struktury zasiewów oraz prowadzonej agrotechniki. Zwróciła również uwagę, na aspekty związane ze zwalczaniem miotły, poprzez stosowanie prawidłowej agrotechniki, poprawę warunków fizycznych gleby, korzystny płodozmian oraz aplikowanie herbicydów zgodnie z zasadami integrowanej ochrony roślin. Doktorantka w umiejętny sposób opisała odporność chwastów na herbicydy, scharakteryzowała rodzaje oraz mechanizmy odporności, fitness chwastów a także czynniki powstawania odporności, wśród których zasadnicze znaczenie ma potencjał genetyczny chwastów oraz presja selekcyjna środowiska, generowana m.in. poprzez następstwo roślin, uprawę roli oraz częste stosowanie tych samych herbicydów o tym samym mechanizmie działania. Na podstawie literatury Doktorantka omówiła historyczny kontekst rozwoju odporności chwastów na świecie i w Polsce ze szczególnym uwzględnieniem miotły zbożowej.

Cel i hipoteza badań - O dobrym opanowaniu „warsztatu badawczego” przez Doktorantkę świadczy także wyartykułowanie hipotezy badawczej, która w wielu pracach jest pomijana. W rozdziale tym dodatkowo sformułowano cele podjętych badań, które ułatwią sporządzenie wniosków końcowych zawartych w dysertacji. Wyróżniono trzy cele:

- ocena stopnia odporności *Apera spica-venti* występującej w agrocenozach województwa lubelskiego i podlaskiego na wybrane substancje aktywne z grupy inhibitorów syntazy acetylmleczanowej, inhibitorów karboksylazy acetylokoenzymu A, inhibitorów fotosyntezy fotosystemu II oraz inhibitorów tworzenia mikrotubuli
- wyjaśnienie mechanizmu odporności wybranych populacji
- scharakteryzowanie praktyk rolniczych na polach, na których występowała miotła zbożowa odporna na herbicydy.

Charakterystyka obszaru badań – w rozdziale tym Autorka przedstawiła potencjał przyrodniczy województwa lubelskiego i podlaskiego oraz wskazała na zróżnicowany wskaźnik waloryzacji rolniczej przestrzeni produkcyjnej, który wynika z warunków naturalnych i decyduje o przydatności terenów do prowadzenia produkcji rolniczej. W tej części pracy mgr inż. Justyna Łukasz scharakteryzowała również strukturę użytków i gospodarstw rolnych porównując dane z analizowanych województw do wskaźników ogólnopolskich.

Materiał i metody badań – zgromadzony bogaty materiał pozwolił Doktorantce na właściwe zaplanowanie i przeprowadzenie doświadczenia oraz wykonanie odpowiednich analiz. Ta część pracy zawiera trzy podrozdziały: Pobieranie i ewidencjonowanie prób miotły

zbożowej, Testy biologiczne (wstępne i szczegółowe) przeprowadzone w szklarniach oraz Analiza molekularna genu als wybranych populacji *Apera spica-venti*.

Ziarniaki miotły zbożowej potencjalnie odpornej na herbicydy zebrano w latach 2017-2020 na terenie województwa lubelskiego – 108 prób i podlaskiego – 25 prób. Próbkę pobierano z pól, na których występowały trudności ze zwalczaniem badanego chwastu. W nieco ponad połowie przypadków przeprowadzono ankiety z właścicielami pól, w celu uzyskania informacji dotyczącej historii pól tj, systemu uprawy roli, klasy gleby, stanowiska oraz zabiegów herbicydowych stosowanych w ostatnich trzech latach. Dane te posłużyły do wyliczenia częstości stosowania substancji aktywnych przeznaczonych do zwalczania miotły w ocenianym okresie.

Testy biologiczne wykonano w szklarni, w kontrolowanych warunkach. Ziarniaki miotły wysiewano do palet rozsadowych w trzech powtórzeniach. Odporność *Apera spica-venti* badano wobec czterech herbicydów powschodowych i dwóch doglebowych. Herbicydy aplikowano odpowiednio w fazie 2-3 liści właściwych miotły lub bezpośrednio po siewie. Do aplikacji herbicydów wykorzystano opryskiwacz kabinowy. Skuteczność działania herbicydów porównywano z obiektem kontrolnym, na którym nie stosowano zabiegu herbicydowego. Na podstawie testów wstępnych wizualnie oceniono reakcję roślin na badane substancje aktywne, poprzez oszacowanie redukcji biomasy chwastu. Test ten umożliwił wytypowanie biotypów wrażliwych i potencjalnie odpornych. W testach szczegółowych biotypy odporne opryskiwano 7 dawkami herbicydów: od 1/2 N do 32N. Natomiast biotypy wrażliwe również siedmioma dawkami, ale o niższym stężeniu – od 1/16 N do 4 N, gdzie 1N oznacza pełną dawkę substancji aktywnej. Ocenę skuteczności działania herbicydów przeprowadzono po 21 dniach w przypadku herbicydów powschodowych i po upływie 5 tygodni badając herbicydy doglebowe. Wrażliwość miotły zbożowej określono na podstawie masy nadziemnej testowanego chwastu. Wyniki badań opracowano wykorzystując pakiet Microsoft Office oraz program statystyczny środowiska R. Dla biotypów wrażliwych i odpornych określono dawkę efektywną ED₅₀ oraz błąd standardowy. Na podstawie tych wyników określono współczynnik odporności RI. Badania molekularne przeprowadzono dla 6 populacji miotły odpornej na jodosulfuron metylosodowy.

Omówienie wyników badań – ta część pracy składa się z czterech podrozdziałów pierwszego rzędu i trzech drugiego rzędu. Zostały one ułożone w logicznej kolejności. W pierwszym z nich Autorka omówiła badania ankietowe, w których określiła warunki w jakich występowały odporne populacje *Apera spica-venti*. Badania ankietowe wykazały, że na polach uprawnych z miotłą zbożową wykazującą odporność na jodosulfuron metylosodowy oraz piroksysulam, najczęściej stosowane przez rolników były herbicydy na bazie inhibitorów syntazy acetylmleczanowej ALS. Ankiety pozwoliły również na ustalenie jaka była częstotliwość stosowania substancji czynnych na polach, na których występowała miotła zbożowa odporna na różne mechanizmy działania herbicydu. W drugim podrozdziale, bardzo interesującym poznawczo i użytkownie, Doktorantka oceniła poziom odporności badanych populacji miotły zbożowej na herbicydy należące do różnych grup. Zrobiła to na podstawie dawki efektywnej ED₅₀ oraz współczynnika odporności RI. W tej części pracy podano również redukcję biomasy

badanego chwastu w zależności od zastosowanej substancji czynnej, dawki aplikowanego herbicydu oraz stopnia odporności miotły zbożowej. W trzecim podrozdziale mgr inż. Justyna Łukasz scharakteryzowała populacje *Apera spica-venti*, które wykazują odporność wielokrotną na testowane substancje aktywne, natomiast w czwartym Autorka przedstawiła bardzo ciekawą analizę molekularną genu syntazy acetylmleczanowej, co umożliwiło poznanie mechanizmu odporności. W ostatniej części tego rozdziału przedstawiono rozkład przestrzenny zidentyfikowanych na Lubelszczyźnie i Podlasiu populacji miotły zbożowej, w zależności od rodzaju odporności na herbicydy. Graficzne przedstawienie tych danych ułatwia wyznaczenie stref, w których należy podjąć działania zmierzające do efektywnych zabiegów regulacji zachwaszczenia.

Tematyczne wykresy, tabele, fotografie i mapy zostały skonstruowane w prosty, czytelny sposób z precyzyjnymi informacjami zamieszczonymi w tytułach, opisach i legendach. Ta część dysertacji wskazuje na dojrzałość Pani mgr Justyny Łukasz w zakresie trudnej sztuki precyzyjnego, ale nie drobiazgowego omówienia wyników badań eksperymentalnych. Każda z opisywanych grup ma podobną konstrukcję, co ułatwia odbiór pracy.

Dyskusja – w tym rozdziale wyniki badań własnych zostały skonfrontowane z wcześniejszymi badaniami krajowymi i zagranicznymi. Autorka zrobiła to umiejętnie, z odpowiednią rezerwą i zakładanym prawdopodobieństwem. Dysponując bardzo dużą ilością zgromadzonych danych i jednocześnie bogatym piśmiennictwem uczyniła to w sposób swobodny i zarazem precyzyjny. Doktorantka w tym rozdziale podjęła również próbę wyjaśnienia wielu rozbieżności pomiędzy badaniami własnymi a doniesieniami z literatury, co wskazuje na analityczne, a nie sprawozdawczo-porównujące podejście do tej części dysertacji. Na duże uznanie zasługuje fragment poświęcony wskazaniu praktyk prowadzących do przeciwdziałania rozprzestrzenianiu się odpornych populacji miotły zbożowej. Ta część pracy jest interesująca, dobrze prowadzona i wyczerpująca.

Wnioski - Zasadniczą część rozprawy doktorskiej konkluduje 7 wniosków, które korespondują z tematem, hipotezą badawczą i celami badań. Zostały one sformułowane poprawnie, w oparciu o uzyskane wyniki, są one dobrą konkluzją obszernych i wieloaspektowych badań. Dla zwiększenia walorów pracy, zwłaszcza podczas przygotowywania jej do druku, należałoby wnioski uzupełnić o ciekawe z głównie z utylitarnego punktu widzenia konkluzje dotyczące zalecanych praktyk rolniczych na polach, na których występuje miotła odporna na herbicydy, takie założenie zostało określone w rozdziale cel i hipoteza badań.

Piśmiennictwo - Dobór literatury jest właściwy. Bibliografia zawiera 218 pozycji, z czego 123 (56%) to artykuły obcojęzyczne, Publikacje z ostatnich 10 lat stanowią 32%. Piśmiennictwo odzwierciedla stan wiedzy dotyczący podjętej problematyki. Z satysfakcją należy stwierdzić, że wszystkie pozycje podane w spisie literatury przytaczane są w pracy. Nie stwierdziłem też, aby cytowani w pracy autorzy byli pominięci w piśmiennictwie. Literatura zestawiona jest z bardzo dużą starannością, na 18 stronach piśmiennictwa znalazłem tylko dwie

drobne nieścisłości. Pozycji 24 jest „Mimimize” a powinno być „Minimize” oraz poz. 154 jest „Powszechny Spis Rolny 2020” natomiast w tekście Autorka podaje „Powszechny Spis Rolny 2021”.

4. Uwagi i wniosek końcowy

Na podkreślenie i wysoką ocenę pracy zasługuje poprawny język i staranna strona edytorska dysertacji. Pracę oceniam pozytywnie, ale z racji funkcji recenzenta nasuwają mi się jednak pewne pytania i uwagi. Wymagają one wyjaśnienia i ewentualnie mogłyby pomóc w przygotowaniu pracy do druku. Dodatkowe pytania i uwagi z mojej strony są następujące:

1. W przeglądzie literatury, Autorka informuje, że praktykowanie uprawy bezorkowej zwiększa prawdopodobieństwo pojawienia się populacji odpornych. Dlaczego w badaniach własnych populacje odporne dominowały w systemie orkowym?
2. Które elementy agrotechniki w dominujący sposób ograniczają możliwość pojawienia się w agroekosystemach odpornych populacji miotły zbożowej?
3. Jak wynika z mapy zamieszczonej w pracy, *Apera spica-venti* dominuje głównie w Europie Środkowej. Jakie czynniki ograniczają jej występowanie w Europie Wschodniej i Zachodniej?
4. Potencjał przyrodniczy określonego obszaru można scharakteryzować za pomocą Wskaźnika waloryzacji rolniczej przestrzeni produkcyjnej (WRPP). W tekście pracy zamiast określenia „waloryzacji” użyto „wartości”, co nie jest poprawne.
5. Na str. 75, w komentarzu do tabeli 15, Doktorantka wykazała, że ED₅₀ dwóch populacji było niewiele niższe od dawki rekomendowanej. Jako przykład zostały podane dwa razy te same numery populacji (8493, 8493)
6. W omówieniu wyników Autorka opisując strukturę zasiewów używa sformułowań buraki oraz ziemniaki. W opracowaniach naukowych pisząc o gatunkach roślin, należy stosować liczbę pojedynczą. Mówiąc o materiale generatywnym traw, korzystniej jest używać sformułowania ziarniaki (niż nasiona). Według nowej nomenklatury bobik i groch należą do roślin bobowatych, a nie strączkowych.
7. W tabeli 4 brakuje pełnej nazwy wymienianych krajów. W pozycji 22 i 23 zapisane jest jedynie „Południowa”. Co oznacza wartość w kolumnie „Liczba przypadków (gatunek x HRAC)”?
8. W przeglądzie literatury zauważyłem pewną niekonsekwencję: Autorka najczęściej posługuje się łacińskimi nazwami chwastów, ale w niektórych miejscach używa łącznie nazwy polskiej i łacińskiej.

Przedstawione uwagi nie umniejszają w żaden sposób wartości recenzowanej pracy doktorskiej, którą uważam za bardzo dobrą, mają one często charakter dyskusyjny. Praca zawiera bogaty, oryginalny materiał dokumentacyjny i stanowi wartościową, a zarazem nowatorską pozycję naukową w zakresie badań nad wpływem poziomu odporności miotły zbożowej na wybrane substancje aktywne herbicydów w południowo-wschodniej części Polski. Doktorantka wykazała się dużą wiedzą w zakresie tematu pracy, umiejętnością zaplanowania,

przeprowadzenia i opracowania problemu badawczego oraz bardzo dobrą znajomością piśmiennictwa.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Justyny Łukasz pt.: „**Ocena poziomu odporności miotły zbożowej (*Apera spica-venti* (L.) P.B.) na wybrane substancje aktywne herbicydów**” kwalifikuje Doktorantkę do ubiegania się o stopień doktora nauk rolniczych w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Stwierdzam również, że praca ta spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim wg ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.).

Wnoszę zatem do Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Justyny Łukasz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. Roman Waclawowicz, prof. uczelni