

Dr hab. Halina Kucharczyk, prof. UMCS
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,
Wydział Biologii i Biotechnologii,
Instytut Nauk Biologicznych,
Katedra Zoologii i Ochrony Przyrody,
Ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Lublin, 2023-09-17

Wpłynęło dnia:

22. 09. 2023

**Dziekanat Wydziału
Biotechnologii i Ogrodnictwa URK**

**Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Dominiki Grabowskiej
pt. „Możliwość wykorzystania biopestycydów w ochronie cebuli (*Allium
cepa* L.) i pora (*Allium ampeloprasum* L.) do zwalczania wciornastków”**

Rozprawa doktorska mgr inż. Dominiki Grabowskiej wykonana została w Katedrze Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin na Wydziale Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie pod kierunkiem dr hab. inż. Marii Pobożniak.

W swojej rozprawie mgr inż. Dominika Grabowska przedstawia rezultaty trzyletnich badań nad wpływem stosowania biopestycydów oraz porównawczo pestycydu chemicznego na skład, dynamikę liczebności oraz poziom uszkodzeń roślin żywicielskich – cebuli (*Allium cepa* L.) oraz pora (*Allium ampeloprasum* L.) - przez wciornastki (Thysanoptera). Jak pisze autorka, niemal na całym świecie, oba warzywa stanowią istotny składnik diety człowieka, co wiąże się z częstą ich uprawą. Oba warzywa są źródłem ważnych dla zdrowia człowieka składników, wśród nich kwasów fenolowych, pochodnych flawonoidów, polimerów flawonoidowych, które poprzez działania przeciwbakteryjne, przeciwutleniające i przeciwgrzybiczne korzystnie wpływają na zdrowie człowieka. Jak wiele roślin uprawnych, zarówno cebula, jak i por są miejscem występowania i żerowania szkodliwych, z punktu widzenia rolnictwa, owadów, jakimi są wciornastki. Z licznych badań prowadzonych w różnych regionach świata wynika, że głównym szkodnikiem obu roślin jest wciornastek tytoniowiec (*Thrips tabaci* Lind.).

Wciornastki z rodziny Thripidae, wśród nich *Thrips tabaci*, charakteryzują się niewielkimi rozmiarami ciała (przeważnie 1,2 – 1,5 mm długości), kłująco-ssącym aparatem gębowym o asymetrycznej budowie oraz ukrytym trybem życia. Spotykane są u nich różne formy uskrzydlenia, od długoskrzydłych poprzez krótkoskrzydłe do bezskrzydłych, co powoduje różne możliwości rozprzestrzeniania się. Wciornastki mogą aktywnie poruszać się kolonizując niezbyt odległe rośliny żywicielskie lub ze względu na niewielkie rozmiary mogą być biernie przenoszone przez wiatr na większe odległości. Sposób odżywiania – wysysanie zawartości komórek mięksiszowych roślin – powoduje uszkodzenia mechaniczne roślin umożliwiające rozwój chorób bakteryjnych i grzybowych oraz sprzyja rozprzestrzenianiu się chorób wirusowych, których wektorami mogą być wciornastki, wśród nich wciornastek tytoniowiec. Dlatego istotnym problemem, z punktu widzenia producentów warzyw, jest ograniczenie jego występowania lub całkowita eliminacja z upraw. Ze względu na zdolność rozmnażania partenogenetycznego wciornastki w krótkim czasie, szczególnie w obliczu występowania ocieplenia klimatu i długich okresów z wysokimi temperaturami w sezonie wegetacyjnym, mogą skracać cykl życiowy doprowadzając do masowych pojawów w uprawach roślin przyczyniając się do



znacznego obniżenia plonów lub całkowitego (np. w uprawach szklarniowych) zniszczenia plantacji. Dodając do tego dużą zdolność do nabywania odporności na stosowane powszechnie pestycydy chemiczne, bardzo istotne jest poznanie wpływu biopestycydów na eliminację tych szkodników z upraw. Preparaty te na bazie naturalnie występujących w roślinach substancji, np. olejków eterycznych, substancji zapachowych, metabolitów wtórnych, mogą być stosowane częściej nie zanieczyszczając środowiska i nie stanowiąc zagrożenia dla zdrowia człowieka. Dlatego podjęcie badań nad możliwością stosowania biopestycydów do zwalczania wciornastków na cebuli i porze uważam za zasadne.

Ocena formalna pracy

Przedstawiona do oceny praca mgr Dominiki Grabowskiej ma klasyczny układ, typowy dla rozpraw naukowych, liczy 134 strony (bez Spisu treści, Spisu tabel i Spisu rycin) podzielone na 11 rozdziałów. Po krótkim „Wstępie”, przedstawieniu „Hipotez badawczych” i „Celu pracy” (trzy strony) następuje obszerny „Przegląd literatury” dotyczący zagadnień poruszanych w dysertacji (osiem stron), „Materiał i Metody” opisane zostały w ośmiu podpunktach (osiem stron) charakteryzujących stanowiska badawcze, skład użytych pestycydów i terminy ich zastosowania, metodykę badań entomologicznych. Najobszerniejszy w pracy rozdział „Wyniki” liczy 65 stron i został podzielony na podrozdziały pierwszego i drugiego rzędu, w których systematycznie, uwzględniając rok badań, rodzaj uprawy, zastosowany pestycyd i metodę odłowu owadów, przedstawiono analizowane zagadnienia w postaci tekstu, rycin (29) i tabel (19 oraz dodatkowo 12 w „Materiałach uzupełniających”). „Dyskusja” kończąca zasadniczą część pracy (11 stron) porównuje uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań z opublikowanymi w licznych artykułach naukowych rezultatami badań nad znaczeniem wciornastków (głównie *T. tabaci*) i ich zwalczaniem w uprawach warzyw w Polsce i na świecie. Krótkie „Podsumowanie i Wnioski końcowe” oraz „Streszczenie” poprzedzają bardzo obszerny wykaz literatury cytowanej w dysertacji, liczący 270 pozycji. Są to głównie artykuły i rozdziały w monografiach w j. angielskim (227), 40 to pozycje w j. polskim, dwie we francuskim i jedna w niemieckim, poza nimi Autorka cytuje osiem źródeł internetowych. Do pracy dołączony został również skan streszczenia w j. polskim i angielskim podpisane przez Promotora pracy dr hab. inż. Marię Pobożniak, prof. URK.

Układ pracy oraz podział na rozdziały i podrozdziały nie budzi moich zastrzeżeń.

Ocena merytoryczna pracy

W przedstawionej do oceny rozprawie mgr inż. Dominika Grabowska postawiła cztery hipotezy badawcze:

1. zarówno cebula, jak i por są zasiedlane przez różne gatunki wciornastków,
2. wybrane przez autorkę preparaty (biopestycydy, pestycyd chemiczny, oraz kombinacja użytych biopestycydów) mają wpływ na obniżenie liczebności wciornastków na badanych roślinach,
3. zastosowane preparaty zmniejszają szkody wywołane żerowaniem wciornastków,
4. zastosowane preparaty mają wpływ na zmniejszenie populacji drapieżnego wciornastka pstrokacza (*Aeolothrips intermedius* Bagn.).

„Celem badań było określenie składu gatunkowego wciornastków (Thysanoptera), występujących na cebuli (*Allium cepa* L.) i porze (*Allium ampeloprasum* L.), ocena ich szkodliwości oraz zbadanie przydatności wybranych biologicznych i biotechnicznych środków ochrony do ograniczenia ich występowania oraz zmniejszenie powodowanych przez nie uszkodzeń” (s. 3).

Przegląd literatury

W obszernym przeglądzie Doktorantka wykazała się dobrą znajomością literatury światowej dotyczącej tematu badań. Jednak omawiając poszczególne zagadnienia nie ustrzegła się błędów. Zauważyłam m.in. wiele błędów literowych, stylistycznych, a także błędy merytoryczne oraz użycie nazw niezgodnych z obowiązującymi kodeksami nomenklatury, np.:

Str. 4. w charakterystyce stadium larwalnego *Thrips tabaci* Doktorantka pominęła wiele istotnych cech różniących stadia larwalne i poczwarkowe od imago (nie podano literatury źródłowej np. Vierbergen i in. 2010). Na tej samej stronie zauważyłam błąd merytoryczny „Na przedtułowiu, u dorosłych form uskrzydłonych znajdują się dwie pary dobrze rozwiniętych skrzydeł”, skrzydła u wszystkich owadów występują na śród- i za tułowiu!

Str. 5. Wg nowej klasyfikacji taksonomicznej wirusy z wcześniejszego rodzaju *Tospovirus* należą do rodzaju *Orthotospovirus* i rodziny *Tospoviridae* (Hong et al. 2020, Mound et al. 2022).

Na tej samej stronie obecne jest niepoprawne gramatycznie oraz merytorycznie zdanie - „Preparaty te działają na docelowego szkodnika i organizmy ściśle związane, nie mające negatywnego wpływu na pszczoły (Blackburn i in. 2016, Krupa i in. 2018), zwierzęta i owady pożyteczne, takie jak drapieżniki i pasożytniki, które nie są przedmiotem zwalczania”.

Str. 6. Różna pisownia nazwy azadirachtyna lub azadirachtyna – substancji czynnej miodli indyjskiej, na tej samej stronie niepoprawne sformułowanie - „Preparaty, ..., działają ujemnie na wciornastki, miniarki, motyle, chrząszcze, niektóre błonkówki” – preparaty działają negatywnie, a nie ujemnie.

Str. 7 „Do najważniejszych przedstawicieli grzybów owadobójczych z typu *Ascomycetes...*” – wg kodeksu nomenklatury obecnie obowiązująca nazwa typu to *Ascomycota* (pisane czcionką normalną).

Materiał i Metody

Aby zweryfikować postawione hipotezy Autorka przeprowadziła trzyletnie badania w 2016, 2017 i 2019 r. na poletkach doświadczalnych położonych w Rożkach k. Sandomierza wykorzystując jako rośliny testowe cebulę odmiany ‘Tęcza’ i por odmiany ‘Jolant’. Dla każdej z roślin doświadczenie prowadzono w czterech powtórzeniach i pięciu kombinacjach (próba kontrolna – bez pestycydów oraz próby doświadczalne z zastosowaniem oprysków pestycydami). W latach 2016 i 2017 wykonano po trzy opryski w odstępach dwutygodniowych w lipcu na cebuli oraz lipcu i sierpniu na porze. W 2019 r. liczbę oprysków zwiększono do ośmiu w czerwcu i lipcu na cebuli oraz do dziewięciu, od czerwca do sierpnia, na porze. W 2019 r. opryski wykonano w odstępach tygodniowych. Wciornastki zbierano na wszystkich poletkach pobierając i analizując 10 roślin oraz wykonując próbę standaryzowanym czerpakiem entomologicznym. Zebrany materiał analizowano pod względem składu gatunkowego wciornastków, ich liczebności; przedstawiono na tej podstawie dominację osobniczą, stałość występowania i dynamikę liczebności w sezonie wegetacyjnym w kolejnych latach badań na obu warzywach. Analizowano również stopień (% powierzchni) uszkodzeń powodowanych przez wciornastki na liściach cebuli i pora w ciągu sezonu wegetacyjnego oraz skuteczność stosowania pestycydów obliczoną wzorem Abbota. Wyniki opracowano statystycznie wykorzystując jednokierunkową analizę ANOVA, przy braku normalności rozkładu dane poddano transformacji logarytmicznej, za istotne statystycznie uznano wartości $p < 0,05$.

Sposób przeprowadzenia doświadczalnych prac polowych, m.in. liczba pobranych prób oraz sposób opracowania zebranego materiału nie budzi moich zastrzeżeń, jednak Autorka nie uwzględniła w opisie metodyki istotnych elementów oraz nie ustrzegła się nieprecyzyjnych sformułowań, np.:

Str. 11. „Spreparowane okazy poddano identyfikacji taksonomicznej przy wykorzystaniu klucza autorstwa Zawirskiej (1994)” – wg zacytowanego klucza można zidentyfikować tylko imago, brak informacji w jaki sposób określano gatunek larw wciornastków.

Str. 13. Analizę stopnia uszkodzeń roślin włączono do podrozdziału 5.3. „Metodyka badań entomologicznych”. Zagadnienie to powinno być omówione w oddzielnym podrozdziale. W opisie analizy nie podano terminów, w jakich pobierano próbki roślin do oceny stopnia uszkodzeń na poszczególnych poletkach badawczych – znajdujemy je dopiero w „Wynikach” – podrozdział 6.13. (ryc. 26).

Str. 14. W legendzie do wzoru współczynnika dominacji wystąpił błąd merytoryczny: D_i to dominacja osobnicza (a nie dominacja poszczególnych gatunków), czyli iloraz liczby osobników danego gatunku (n_i) i liczby osobników wszystkich gatunków zebranych na danym stanowisku (N). W opisie wyników wartości te liczone są poprawnie natomiast opis wzoru jest błędny.

Wyniki

Wyniki zostały zaprezentowane w ujednolicony sposób dla obu badanych upraw: cebuli i pora w kolejnych latach badań, oddzielnie dla dwóch sposobów pobierania prób. Składały się nań: skład gatunkowy, liczebność, współczynnik dominacji i stałości wciornastków zasiedlających uprawy, współczynnik płci oraz wpływ testowanych preparatów na występowanie wciornastków na poletkach kontrolnych oraz poddanych działaniu testowanych pestycydów. Uzyskane wyniki zostały zaprezentowane opisowo, w tabelach oraz uzupełnione wykresami.

W całym obszernym rozdziale zauważyłam liczne błędy literowe, gramatyczne (złe odmiany rzeczowników), stylistyczne i leksykalne (np. niepoprawne użycie słów). Pytania do Doktorantki dotyczące rozdziału zamieściłam na końcu recenzji, poniżej zamieszczam jedynie uwagi do tekstu i tabel:

1. w tytułach podrozdziałów 6.3.2., 6.3.4., 6.3.6, 6.3.10., 6.3.12. jest „Wpływ testowanych preparatów na dynamikę populacji wciornastka tytoniowca”, powinno być „na dynamikę liczebności populacji”. Podobna uwaga odnosi się do podpisów w podrozdziałach dotyczących pora, np. 6.10.6., 6.10.8., 6.10.10., 6.10.12.
2. Podrozdział 6.3.11, str. 38 – zdanie niezrozumiałe „Po wykonanych analizach czerpakiem entomologicznym (w 2019 roku), stwierdzono istotny wpływ na dorosłe osobniki wciornastka tytoniowca oraz na sumę imago i larw” – chodzi chyba o zbiór osobników na poletkach za pomocą czerpaka.
3. Ryc. 9 i 10 – skoro ostatni oprysk był 27.07.2019 to jego skuteczność powinna być zbadana poprzez pobór prób tydzień później (wg wcześniejszego schematu), skoro 27.07 nie stwierdzono wciornastków (Tab. 10) to w jakim celu zastosowano tego dnia oprysk? (dotyczy to zarówno prób z roślin, jak i czerpakowych).
4. Str. 44. i 78 Tytuły podrozdziałów 6.6. i 6.13 powinny brzmieć: „Porównanie stopnia uszkodzenia liści cebuli (i odpowiednio pora) w próbie kontrolnej i po zastosowaniu preparatów owadobójczych...”
5. Uwaga do rycin przedstawiających sezonową dynamikę liczebności: zmiany w liczebności wciornastków na obu badanych gatunkach i w obu zastosowanych metodach zbioru mogły wynikać nie z zastosowania pestycydów ale z naturalnego cyklu życiowego wciornastków: czerwiec - żerowanie zimującego pokolenia imago, koniec czerwca i początek lipca - rozwój larw i poczwerek, lipiec żerowanie larw i imago (maksimum pojawu), koniec lipca - sierpień – rozwój drugiego pokolenia imago, przy wysokiej temperaturze może nastąpić skrócenie cyklu

- i przesunięcie terminu maksimum żerowania na drugą i trzecią dekadę lipca (Ryc. 9 i 10). Dla pora te terminy były przesunięte ze względu na późniejsze wysadzenie roślin i zasiedlanie ich przez owady (maksimum pojawów w sierpniu).
6. Str. 53 i 55. Rozbieżność między procentowym udziałem osobników *T. tabaci* zebranych w 2019 r. przedstawionym w tekście na str. 53 (57,8%) i na wykresie kołowym na str. 55 (68,8%).
 7. Str. 78. W podrozdziale dotyczącym pora skopiowano fragmenty zdań dotyczące cebuli, podobnie na str. 80 i 82 dwukrotnie występuje ten błąd.

Dyskusja

W rozdziale tym autorka konfrontuje uzyskane przez siebie wyniki z wcześniej opublikowanymi w czasopismach naukowych. Obszernie cytowana literatura (również najnowsza z lat 2010-22) wskazuje na dobre poznanie tematu badań i umiejętność jego analizy na tle opracowań światowych. Moja główna uwaga dotyczy zbyt obszernego przytaczania w tym rozdziale rezultatów badań własnych (zamieszczonych we wcześniejszym rozdziale) w zestawieniu z wynikami badań innych autorów. Takie zestawienie niepotrzebnie wydłuża ten rozdział i utrudnia skupienie się na istotnych elementach dyskusji. Utrudnione skupienie się na dyskutowanych zagadnieniach pogłębiają wytknięte wcześniej błędy gramatyczne i stylistyczne, leksykalne oraz użytej terminologii, poniżej przytoczę tylko niektóre:

Str. 87. „Wciornastek kwiatowiec, który troficznie jest związany z roślinami kwitnącymi” – powinno być „roślinami dwuliściennymi”, w kilku zdaniach na tej stronie brak spójników oraz występuje niepoprawna odmiana rzeczowników i przymiotników.

Str. 88. Brak konsekwencji w stosowaniu nazw łacińskich i polskich wciornastków, na tej samej stronie błąd stylistyczny: „ponad 99% zebranych osobników dorosłych to gatunek wciornastek tytoniowiec”.

Str. 89. Brak orzeczenia w zdaniu „...*Aeolothrips* sp. średnio 0,1 i 0,2 drapieżnych wciornastków na roślinę”.

Str. 90. Niejasne sformułowanie - „populacja wciornastków jest dodatnio skorelowana z temperaturą powietrza.”

Str. 94. Zdanie niepoprawne stylistycznie, przez co trudne do zrozumienia „W kolejnym roku badań własnych (2017) na cebuli, testowane środki wykazały skuteczność zarówno podczas analizy liści, jak i analizy czerpakowania, jednak w żadnym przypadku nie była statystycznie istotna”

Podczas czytania całej pracy nasunęły mi się pytania, na których odpowiedzi oczekuję od Doktorantki podczas publicznej obrony.

Pytania do Doktorantki

1. Jak wyjaśnić tak dużą rozbieżność w liczbie zebranych osobników w poszczególnych latach okresu badań: w roku 2016 (71%) oraz w latach 2017 (14%) i 2019 (15%)?
2. Proszę o komentarz do składu gatunkowego wciornastków stwierdzonych na cebuli i porze (rośliny jednoliścienne), szczególnie obecność wciornastka kwiatowca (*Frankliniella intonsa*) i wciornastaka złocieniowca (*Haplothrips leucantheri*), które są związane z roślinami dwuliściennymi, a ten drugi jest monofagiem złocieni (*Leucanthemum* sp.)
3. Czym były spowodowane różnice w średniej liczbie imago i larw odłowionych podczas stosowania dwóch metod zbioru: bezpośrednio z roślin oraz w próbach czerpakowych (np. tab. 7 i 17)?

4. Jak wytłumaczyć znacznie mniejszą efektywność stosowania Mospilanu 20 na liczebność wciornastków na cebuli w 2017 r. w stosunku do 2016 r.?
5. Dlaczego zmieniono schemat oprysków w 2019 i czy na skutek tej zmiany wyniki z trzech lat badań mogą być porównywalne i mogą dać odpowiedź na hipotezy 2 i 3 postawione na początku badań?
6. Biorąc pod uwagę niejednoznaczne wyniki uzyskane podczas badań, który z pestycydów zaleciłaby Pani do stosowania przy zwalczaniu wciornastków w uprawach cebuli i pora?

Podsumowanie

W przedstawionej do oceny dysertacji mgr inż. Dominika Grabowska podjęła się zbadania wpływu stosowania biopestycydów na skład gatunkowy, dynamikę populacji i stałość występowania wciornastków oraz poziom powodowanych przez nie uszkodzeń liści cebuli i pora. Podczas trzyletnich badań z zastosowaniem dwóch metod zbioru w czterech powtórzeniach i pięciu kombinacjach stosowania środków owadobójczych Doktorantka zgromadziła ogromną liczbę danych, które z powodzeniem mogłyby być wykorzystane do kilku publikacji. Zarówno planując doświadczenia polowe, jak i opracowując zebrane dane, mgr. inż. Dominika Grabowska wykazała się cierpliwością, dokładnością, znajomością zastosowanych metod statystycznych i znajomością literatury przedmiotu, co świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki. Nie ustrzegła się jednak wielu błędów edytorskich, stylistycznych i kilku merytorycznych (przedstawionych powyżej). Mogą być one jednak wyeliminowane podczas przygotowywania publikacji do druku.

Dlatego zgodnie z art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. **„Możliwość wykorzystania biopestycydów w ochronie cebuli (*Allium cepa* L.) i pora (*Allium ampeloprasum* L.) do zwalczania wciornastków”** spełnia warunki stawiane pracom doktorskim i wnioskuję do Rady Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o przyjęcie rozprawy **mgr inż. Dominiki Grabowskiej** i dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego w celu nadania stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie nauki rolnicze i dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

/dr hab. Halina Kucharczyk, prof. UMCS/