

dr hab. Marian J. Giertych
Uniwersytet Zielonogórski
Wydział Nauk Biologicznych
ul. Prof. Z. Szafrana 1
65-516 Zielona Góra



Kórnik, 15 września 2020

Instytut Dendrologii PAN
ul. Parkowa 5
62-035 Kórnik

Recenzja pracy doktorskiej

Pani mgr inż. Mai Paterskiej

pt. „Związki lotne oraz aktywność inhibitorów trypsyny w liściach kasztanowców (*Aesculus* sp.)
różniących się podatnością na szrotówka kasztanowcowiaczka (*Cameraria ohridella* Deschka &
Dimić)”

Rośliny stale są narażone na rozmaite stresy środowiskowe. Drzewa, z racji swej długowieczności, stanowią w tym względzie grupę szczególną. Narażane są one cyklicznie na różne czynniki stresowe, a ich przystosowania do unikania czy tolerancji stresu są bardzo różnorodne. Do jednych z najważniejszych czynników stresowych, jakim poddane są drzewa, jest aktywność roślinożerców, w tym w szczególności owadów. Wiele gatunków owadów ma tendencję do gradacyjnego pojawiania się na roślinach żywicielskich, a same gradacje są często zjawiskiem cyklicznym i pojawiają się co kilka, a nawet co kilkanaście czy kilkadziesiąt lat. Szczególnym przypadkiem jest długotrwała gradacja szrotówka kasztanowcowiaczka, która w warunkach Europy Środkowej trwa nieprzerwanie od prawie trzydziestu lat. Zależności interakcyjne między szrotówkiem a jego główną rośliną żywicielską, jaką jest kasztanowiec biały (zwyczajny), zostały stosunkowo dobrze rozpoznane. Stale jednak pozostają pytania, na które nie znamy odpowiedzi. Jedną z niewyjaśnionych kwestii jest zróżnicowana podatność gatunków w ramach rodzaju *Aesculus* na szrotówka.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Mai Paterskiej napisana pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Hanny Bandurskiej i promotora pomocniczego dr. inż. Mariusza Dziadasa stanowi próbę opisanego jednego z wątków biochemicznego zróżnicowania kilku gatunków z rodzaju *Aesculus* o różnej podatności na szrotówka.

Praca liczy 159 stron, z czego 54 strony to zestawienie zidentyfikowanych związków lotnych, a 16 to spis 161 pozycji literatury i ma typowy dla rozpraw doktorskich układ: spis treści, wstęp i cel pracy, przegląd literatury, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, spis literatury oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. W szczegółowej recenzji przedstawię swoje komentarze w odniesieniu do kolejnych części pracy.

Pracę rozpoczyna rozdział „Wstęp i cele pracy”, w którym nakreślono problematykę badań przedstawionych w rozprawie. Określono cel, którym było porównanie profili związków lotnych liści u kilku gatunków kasztanowców, uznanych jako różniące się podatnością na szrotówka kasztanowcowiaczka. Postanowiono sprawdzić czy ten profil zmienia się na skutek żerowania szrotówka. Kolejnym celem było określenie różnic aktywności inhibitorów tripsyny obecnych w liściach, jako potencjalnego czynnika ograniczającego ekspansję szrotówka. W tej części Autorka informuje również, że wyboru drzew dokonano na podstawie danych literaturowych o podatności gatunków na szrotówka oraz na podstawie własnych obserwacji zasiedlenia, czyli wielkości uszkodzeń powodowanych przez miny szrotówka.

Po przeczytaniu wstępu pojawiała się moja pierwsza poważna wątpliwość dotycząca poprawności merytorycznej badań. Autorka badała związki lotne, które potencjalnie mogą działać na samice poszukującą miejsca na złożenie jaj, o czym szczegółowo czytelnik zostaje poinformowany w przeglądzie literatury. Związki lotne nie mają wpływu na żerowanie larw w minach, a przynajmniej nie ma prac, które to dokumentują. Dlatego uważam za poważny błąd, że nie wybrano parametru, który pozwoliłby ocenić aktywność samic na liściach drzew wybranych gatunków kasztanowców. Takim parametrem mogłaby być liczba odwiedzin liści w ciągu jakiejś jednostki czasu lub liczba jaj złożonych na liściach. Ocena stopnia uszkodzenia poprzez wizualny szacunek uszkodzonej powierzchni liści jest nieprzydatna, jeżeli chcemy poznać relację między związkami lotnymi a zachowaniem samic szrotówka. Co prawda liczba złożonych jaj jest skorelowana z liczbą min, jednak bardzo ogólne oszacowanie stopnia uszkodzenia liści znacznie ogranicza możliwości interpretacji, zwłaszcza jeżeli uwzględnimy fakt, że na liściach kasztanowców mogą występować inne uszkodzenia, na przykład powodowane przez patogeny grzybowe. Ponadto brak min u niektórych gatunków kasztanowców może mieć związek z zawartymi w liściach toksycznymi związkami, co może skutkować zamieraniem larw na wczesnych etapach rozwoju i w konsekwencji brakiem widocznych uszkodzeń.

Drugi rozdział to przegląd literatury. Jest on napisany ciekawie i obejmuje dużą część prac w badanym zakresie. Mgr Paterska omawia między innymi hipotezy dotyczące pojawienia się szrotówka w Europie. Szkoda jednak, że Autorka nie dotarła do bardzo ważnej publikacji Lees i in. 2011 (Tracking origins of invasive herbivores through herbaria and archival DNA: the case of the horse-chestnut leaf miner. *Frontiers in Ecology and the Environment* 9(6):322-328), która bazując na dziewiętnastowiecznych zbiorach zielnikowych, właściwie przesądza o prawdziwości hipotezy o bałkańskim pochodzeniu szrotówka.

Trzeci rozdział to tradycyjnie opis materiału wykorzystanego w pracy i przedstawienie zastosowanych metod. Po przeczytaniu tego rozdziału byłem zaskoczony, że badania były przeprowadzone na materiale zebranym z siedmiu egzemplarzy (sic!), ale łącznie reprezentujących aż sześć gatunków. Taki dobór materiału badawczego jest przejawem braku zrozumienia czym jest eksperyment naukowy, czym jest zmienność w biologii i do czego służy analiza statystyczna. Doktorantka wpadła w pułapkę bardzo dobrze rozpoznanego i niestety powszechnego błędu pseudoreplikacji (Hurlbelt 1984 - Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs* 54(2): 187-211). Autorka badała siedem egzemplarzy przez trzy lata, pobierała materiał kilkakrotnie w ciągu sezonu i za każdym razem przygotowała pięć prób czyli powtórzeń analitycznych. Tak zebrany materiał pozwala wnioskować o sezonowych zmianach poziomu badanych związków w przypadku tych kilku konkretnych egzemplarzy. Jednak odnoszenie wyników do gatunku jest nieuprawnione. Wykonane powtórzenia analityczne pozwalają wyeliminować błędy ludzkie czy sprzętowe, ale nie obrazują rzeczywistej zmienności międzyosobniczej. Pobieranie materiału z pojedynczych egzemplarzy nie pozwala poznać wpływu zmienności międzygatunkowej, do której odnoszą się cele pracy. W biologii eksperymentalnej czasem wykorzystuje się materiał nieróżniący się genetycznie np. linie komórkowe czy klon jednej rośliny, ale wówczas celem jest prowadzenie doświadczeń na jednorodnym materiale, który poddawany jest różnym zabiegom eksperymentatora. W przedstawionej do recenzji rozprawie analizowane gatunki były wybrane ze względu na ich wrażliwość na czynnik biotyczny, jakim jest szrotówek kasztanowcowiaczek. W przypadku kasztanowca białego wybrano dwa osobniki różniące się wrażliwością na szrotówka, co oczywiście też jest za mało, i już ta informacja powinna wskazać Doktorantce, że w ramach każdego gatunku mogą być osobniki wrażliwe i odporne. Przyczyną takich różnic mogą być zarówno czynniki wewnętrzne, ale też zewnętrzne. Takie arbitralne zakładanie, że dany gatunek jest odporny lub wrażliwy, na podstawie obserwacji jednego osobnika czy danych literaturowych, prowadzi do błędnych wniosków. Dlatego skoro poszukujemy zależności między wrażliwością na szrotówka a chemizmem liści, musimy zadbać o realne powtórzenia, pozwalające opracować dane statystycznie. Przygotowanie narzędzi statystycznych jest tak samo ważne jak wykalibrowanie chromatografu czy wytarowanie wagi.

Faktem jest, że analiza statystyczna zaprezentowana w pracy wykonana jest nieprawidłowo, bez spełnienia założeń ważnych dla poszczególnych testów. Autorka w podrozdziałach dotyczących metod statystycznych przedstawia trzy analizy: metoda krzywych Andrewsa, analizę składowych głównych oraz analizę wariancji z powtórzonymi pomiarami.

Metoda krzywych Andrewsa nie jest w istocie analizą statystyczną, bo nie testuje hipotez, tylko metodą graficznego przedstawiania danych wielowymiarowych. Pozwala na wyróżnienie istniejących klas w zbiorze obserwacji oraz określenia obserwacji odstających. Stosowanie tej metody, gdy ma się do czynienia ze zbiorem dwu lub pięcioelementowym, nie ma sensu, bo jak w takim zbiorze wyróżniać klasy. Metoda krzywych Andrewsa powstała prawie pięćdziesiąt lat temu, w czasach kiedy wykorzystanie komputerów do analiz statystycznych było bardzo ograniczone i graficzne przedstawienie wyników pozwalało wyciągać pewnie wnioski z wielowymiarowych danych. Dzisiaj współczesne komputery oraz pakiety statystyczne pozwalają znacznie lepiej opracowywać dane wielowymiarowe, niż wizualna ocena krzywych. W opisie metody brakuje informacji o programie jakiego użyto do wyznaczenia ww. krzywych.

Analiza składowych głównych (PCA) jest jedną z tych analiz, która operuje w przestrzeni wielowymiarowej. Jej celem jest sprowadzenie wielu pomiarów do kilku nowych zmiennych ułatwiających interpretację lub pozwalających wydzielić grupy wśród badanych obiektów. Mgr Paterska próbowała wykorzystać PCA do interpretacji zawartości setek stwierdzonych związków lotnych. Przedstawione w rozprawie wyniki tej analizy wskazują na szereg błędów popełnionych w trakcie jej wykonywania i interpretowania. Po pierwsze, z opisu nie wynika jednoznaczne, ale przypuszczać można, że jako powtórzenia potraktowano dwa lub pięć osobników, w zależności od eksperymentu. W analizie PCA liczba powtórzeń powinna być znacząco większa, większość autorów podaje, że minimum to 50, choć spotyka się publikacje oparte o mniejsze liczebności, ale nigdy nie na kilku przypadkach. Po drugie, nie wiadomo jakie wartości zostały włączone do analizy: średnie dla roku, najwyższe stwierdzone wartości, czy może jakieś inne. Po trzecie, interpretacja wyników sprowadziła się do stwierdzenia, w której ćwiartce układu współrzędnych znalazły się wybrane obiekty. Istotą analizy PCA jest określenie (nazwanie) i interpretacja roli nowych zmiennych (składowych), które przy zachowaniu maksymalnie dużej zmienności, pozwalają na podstawie wielu obserwacji wyznaczyć te zmienne, które w największym stopniu decydują o podobieństwie badanych obiektów. Po czwarte nie podano czy sprawdzono założenia tej analizy.

Trzecia z wykorzystanych metod, analiza wariancji z powtarzającymi pomiarami, została zastosowana do opracowania danych aktywności inhibitorów trypsyny. Opisuując tę metodę Autorka wspomina o założeniach jakie muszą być spełnione, żeby można było ją zastosować. Píše o założeniach

normalności rozkładu reszt czy jednorodności wariancji. Nie podaje jednak jakich testów użyła, żeby te założenia sprawdzić. Przypuszczam, że nie wykonała tych testów, bo gdyby je zrobiła przekonałaby się, że na pojedynczych egzemplarzach przyjęte założenie nie mogą być spełnione. Autorka prawdopodobnie była przekonana, że dysponuje powtórzeniami, ale były to niestety tylko pseudoreplikacje.

Podsumowując rozdział metody, można wszystkie uwagi sprowadzić do jednej, niestety dyskwalifikującej całą pracę: brak powtórzeń. Jako recenzent zastanawiałem się jakie są przyczyny tego błędu i czy przypadkiem Autorka poznając literaturę przedmiotu nie trafiła na złe wzorce, które czasem się niestety zdarzają. Dlatego przejrzałem szczegółowo wszystkie cytowane w rozprawie publikacje z tego zakresu. We wszystkich pracach autorzy zadbali o powtórzenia, czasem tylko trzy, ale to już pozwalało na zastosowanie analiz statystycznych. Wyjątkiem są publikacje Autorki rozprawy, wykonane na niemal identycznym modelu doświadczalnym, pierwsza "Paterska M., Bandurska H., Dziadas M., Zawieja B. (2018): The profile of volatile compounds in leaves of *Aesculus* individuals differing in susceptibility to *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić. Acta Physiol. Plant. 40: 51." to praca zamieszczona w materiałach sympozjalnych, a druga to publikacja "Paterska M., Bandurska H., Wyśłouch J., Molińska-Glura M., Moliński K. (2017): Chemical composition of horse-chestnut (*Aesculus*) leaves and their susceptibility to chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić. Acta Physiol Plant 39: 105" zamieszczona w czasopiśmie indeksowanym. Moim zdaniem redakcja popełniła błąd akceptując ją do druku mimo braku powtórzeń w analizach. Niestety, takie sytuacje chociaż rzadko, to jednak się zdarzają. Przypuszczam, że skuteczne opublikowanie tej pracy wprowadziło Autorkę w błędne przekonanie, iż ten rodzaj analizy, na takim materiale jest poprawny.

Jako recenzent zastanawiałem się jak można uratować to co zostało zrobione. Doszedłem jednak do przekonania, że na obecnym etapie nie ma innego rozwiązania jak tylko powtórzenie badań z odpowiednią liczbą powtórzeń i ponowne ich przeanalizowanie. W tym konkretnym przypadku należy wybrać takie obiekty (gatunki), które są liczniej reprezentowane, albo zebrać materiał z kilku ogrodów botanicznych.

Przystępując do recenzowania kolejnych części pracy miałem dylemat czy odnosić wszystko do źle, w moim przekonaniu, zebranego materiału, czy przyjąć założenie, że materiał badawczy zebrany został prawidłowo. Ostatecznie przyjąłem tą drugą możliwość i postanowiłem oceniać dalsze części w sposób niezależny od rozdziału „Materiał i metody”. Kolejnym rozdział pracy to „Wyniki”, który rozpoczyna się on od przedstawienia wybranych danych meteorologicznych zebranych w okresie badań. W przyjętej przez autorkę konwencji stanowią one raczej tło do zasadniczych badań niż

czynnik pozwalający wyjaśnić obserwowane zmiany w zawartości substancji lotnych i aktywności inhibitorów trypsyny. Autorka omówiła w dalszej części pracy, czyli w dyskusji, dane meteorologiczne w powiązaniu z wizualną oceną uszkodzeń liści kasztanowców przez szrotówkę. Moim zdaniem trzyletni okres obserwacji to za mało na wyciąganie jakichkolwiek wniosków dotyczących relacji czynników meteorologicznych ze stopniem uszkodzenia liści. Nie neguję potrzeby prowadzenia takich obserwacji, nawet w krótkotrwałych badaniach, ponieważ czasami mogą one pomóc w wyjaśnianiu niespodziewanych zdarzeń np. załamania gradacji w wyniku późnych przymrozków. Dlatego wydaje się, że ważniejsze byłoby zaprezentowanie oprócz średnich np. temperatury, również wartości minimalnych i maksymalnych.

W następnym podrozdziale przedstawiono wyniki oceny stopnia uszkodzenia liści przez szrotówkę. Interesujący jest fakt braku uszkodzeń na jednym z wcześniej uszkodzanych osobników kasztanowca białego. Świadczyć to może o nagłej zmianie metabolizmu u tego osobnika lub o zastosowaniu przez człowieka jakiegoś sposobu ochrony tego drzewa. Stąd pytanie – czy Autorka sprawdziła, czy ten egzemplarz nie został przypadkiem poddany iniekcji dopędowej środkiem o długotrwałym działaniu i obserwowany brak uszkodzeń nie jest efektem jego działania. Ograniczający wpływ iniekcji dopędowych może być obserwowany nawet kilkanaście lat później (Jagiello i in. 2019. Impact of *Cameraria ohridella* on *Aesculus hippocastanum* growth and long-term effects of trunk injection with pesticides. International Journal of Pest Management 65: 33-43.)

Następnie przedstawiono wyniki analizy związków lotnych, wykrytych przy pomocy chromatografii gazowej w ekstraktach liści. Liczba wykrytych związków jest duża i wiele z nich zostało wykrytych tylko w pojedynczych próbach. Dla celów interpretacyjnych konieczna była redukcja ich liczby oraz zastosowanie narzędzi uogólniających. Autorka wyłączyła z analizy związki charakterystyczne, czyli takie, które wystąpiły tylko w pojedynczych próbach. Pozostałe związki poddała metodzie wizualizującej zwanej krzywymi Andrews'a. Mgr Paterska, doszukując się podobieństw i różnic w przebiegu krzywych w poszczególnych latach badań, postanowiła wyłączyć z rozważań dwa gatunki – *A. flava* i *A. neglecta*. Dla recenzenta jest niejasne dlaczego wyłączono z interpretacji jeden gatunek spośród trzech lub dwóch? Skąd wiadomo, że nie powinno się postąpić odwrotnie i wyłączyć ten drugi? W nauce dopuszczalny jest redukcjonizm, stosuje się go często np. odrzucając w analizie punkty odstające. Niedopuszczalne jednak jest odrzucanie jednego punktu ze zbioru dwóch, bo nie wiadomo, czy odrzucono właściwy? Tego typu podejście do testowania hipotez badawczych nic nie wyjaśnia i bardziej przypomina dostosowywanie wyników do przyjętego z góry założenia, niż rzetelne rozwiązywanie problemów badawczych.

W dalszej części wyników Autorka omawia analizę PCA, przy czym gatunki wyłączone dzięki krzywym Andrewsa zostały również pominięte. Cała interpretacja sprowadza się do przekazania informacji o rozmieszczeniu w układzie współrzędnych punktów odpowiadających badanym gatunkom. Wektorów przedstawionych na rycinach i odpowiadających badanym związkom Autorka nie interpretuje. Píše tylko, że po nałożeniu na siebie wykresów otrzymujemy informację o podobieństwach i różnicach (str. 46). Prawda jest taka, że obrazy zaprezentowane dla poszczególnych lat są całkowicie różne i doszukiwanie się podobieństw jest iluzją.

Sporą część wyników wypełniają dwie tabele (tab. 4 i 5), będące wykazem stwierdzonych związków. W tytule obu tabel znajdziemy informację, że są to związki istotne dla kształtowania się profilu związków lotnych. Autorka nie podaje w jaki sposób potwierdziła tę istotność. Nie wykonała w tym zakresie żadnych testów statystycznych, dlatego nieuprawnione jest używanie terminu „istotne”.

W rozdziale 4.6. Doktorantka zestawia liczby związków stwierdzanych w poszczególnych terminach z okresem żerowania szrotówka. Twierdzi, że profil związków zmienia się na skutek żerowania szrotówka. Jest to wniosek błędny, ponieważ nie uwzględniła żadnej kontroli. Być może obserwowane zmiany są naturalnym procesem w sezonie wegetacyjnym i nie mają nic wspólnego z żerowaniem owada. Można by przypuszczać, że dla kasztanowca białego kontrolą będzie ten jeden nieatakowany osobnik, ale z niewiadomych przyczyn, w latach kiedy nie było widocznych śladów żerowania, wykresy dynamiki sezonowej nie zostały pokazane. Wykonywanie jakichkolwiek analiz bez uwzględnienia kontroli nie ma najmniejszego sensu, bo nie pozwala na jakąkolwiek interpretację.

W kolejnym rozdziale Autorka przedstawia wyniki sezonowych zmian aktywności inhibitorów trypsyny. Porównuje badane gatunki w odniesieniu do ich wrażliwości na szrotówka. Przebieg krzywych jest trudny do interpretacji, nie ma tendencji powtarzających się w kolejnych latach badań, ani wyraźnych różnic między gatunkami. Autorka, podobnie jak to było w przypadku analizy związków lotnych, wyłącza z opisu gatunki (*A. flava* i *A. neglecta*), które arbitralnie uznała za atypowe. W żaden sposób to nie poprawia interpretacji, a jest tylko powiększeniem pracy o kolejną rycinę. Interpretację wyników Doktorantka wsparła analizą wariancji (o nieprawidłowości jej wykonania pisałem powyżej i nie będę do tego wracał), która wykazała istotność wpływu zarówno terminu, gatunku (genotypu) jak i interakcji. Po uzyskaniu istotnych wyników w analizie wariancji, zwykle pogłębia się interpretację wykonując testy porównań wielokrotnych (post-hoc) pozwalające wyróżnić grupy jednorodne. Prawidłowo wykonana analiza post-hoc pokazałaby czy obserwowane różnice we wrażliwości mają odzwierciedlenie w grupowaniu względem aktywności inhibitorów trypsyny.

Ostatnim rozdziałem pracy jest dyskusja wyników. Rozpoczyna się on od dwóch akapitów, które bardziej pasowałyby do wstępu, ponieważ przedstawiają motywy rozpoczęcia prezentowanych badań niż dyskusję uzyskanych wyników.

W kolejnych akapitach Autorka omawia wyniki pomiarów meteorologicznych w odniesieniu do stopnia porażenia kasztanowców przez szrotówkę. Jak już wcześniej wspomniałem, trzyletni okres obserwacji to za mało na wyciąganie dobrych wniosków. W tym fragmencie zdziwiło mnie jednak to, że Doktorantka jest bardzo nieprecyzyjna i konfrontuje dane meteorologiczne z pomiarami, których nie robiła, podaje np.: „w roku 2014 obserwowano dużą ilość larw” (str. 69) lub „o czym świadczyła mała powierzchnia min” (str. 70). W rozdziale „Materiał i metody” Autorka nie wspominała nic o liczeniu larw lub pomiarach powierzchni min, tak więc dyskutując swoje wyniki powinna odnosić się do tego co badała czyli szacunkowej oceny stopnia uszkodzenia liści.

Sporo miejsca w dyskusji Autorka poświęca badanym związkom lotnym. Stara się w mnogości informacji sformułować jakąś syntezę. Jednak zmienność występowania tych związków nie pozwoliła na dobre uogólnienie. Nie udało się wykazać, które związki odpowiadają za podatność na szrotówkę. Doktorantka rozważa również znaną z literatury hipotezę, mówiącą o tym, że nie pojedyncze substancje, a ich odpowiednie kompozycje odgrywają rolę atraktantów lub repelentów. Uzyskane wyniki jednak nie pozwoliły wskazać takiej kompozycji. Teoretycznie taką grupę związków mogłaby wskazać analiza PCA, jednak w tym przypadku tak nie było, gdyż liczba badanych obiektów była za mała. W dyskusji tych wyników odczuć można pewien zawód Autorki, że wyniki analizy PCA nie spełniły jej oczekiwań i że to co wskazała metoda krzywych Andrewsa pozwala lepiej interpretować uzyskane dane. Tymczasem metody te służą do czego innego: PCA pozwala lepiej zrozumieć dane wielowymiarowe dzięki redukcji zmiennych od kilku składowych głównych, a metoda krzywych Andrewsa jest metodą wizualizacji danych wielowymiarowych, co pozwala wyszukać dane odstające i zbieżne. Autorka wyżej ceni sobie tę drugą analizę, gdyż przebieg krzywych pozwolił jej na wyłączenie z interpretacji dwóch gatunków odbiegających od przyjętych założeń. Jak pisałem wcześniej, tego typu podejście przy tak małej liczbie obiektów jest nieuprawnione.

Dalej Doktorantka dyskutuje zmiany profilu związków lotnych, w jej mniemaniu, w wyniku żerowania larw szrotówki. Konfrontuje swoje wyniki z danymi Johna (2006) i stwierdza, że jej wyniki odbiegają od stwierdzanych przez tego autora, a wykryte przez nią związki występowały incydentalnie. W rozważaniach mgr Paterskiej można wyczuć nutę niezadowolenia, że jej wyniki nie wykazują ciekawych zależności i nie potwierdzają stawianych hipotez. W literaturze naukowej wyniki istotne są nadreprezentowane, ponieważ takie łatwiej znajdują przychylność redakcji czasopism, niż wyniki w których nie odrzucono hipotez zerowych. Fakt, że nie udało się potwierdzić stawianych hipotez nie

jest niczym złym, a uzyskane wyniki można opublikować pod warunkiem poprawności metodycznej prowadzonych badań, tu jednak tego zabrakło.

Ostatnim diskutowanym wątkiem badań jest aktywność inhibitorów trypsyny. Autorka doszukuje się pewnych zależności między aktywnością tego enzymu a żerowaniem szrotówka. Jednak jak sama stwierdza, wyniki nie są jednoznaczne, a same inhibitory trypsyny mogą mieć również inne funkcje fizjologiczne, niż tylko ochrona przed roślinożercami. Dla potwierdzenia tych relacji należałoby zaplanować eksperyment, gdzie rośliny konkretnego gatunku w sposób kontrolowany poddano by żerowaniu szrotówka i prowadzono równolegle analizy w roślinach kontrolnych. Tylko takie doświadczenie pozwoliłoby wykazać obronną rolę inhibitorów trypsyny u kasztanowców, eliminując naturalne zmiany aktywności badanych związków w sezonie wegetacyjnym. Szkoda, że Autorka mając opracowane techniki laboratoryjne takiego eksperymentu nie wykonała. Uzyskałaby bardzo interesujące wyniki i to niezależnie od tego jak przedstawiałyby się aktywność inhibitorów trypsyny.

Pracę kończy zestawienie 8 wniosków, których część (wnioski 1, 3, 5 i 7) lepiej byłoby nazwać podsumowaniem wyników, a pozostałe uważam za nieuzasadnione ze względu na błędy metodologiczne wykazane powyżej.

Uwagi edytorskie i językowe.

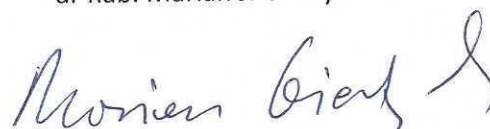
Praca napisana jest poprawnym językiem, choć zdarzają się literówki czy drobne nieścisłości. Sposób cytowania literatury nie budzi zastrzeżeń. Pewną niedogodnością jest przyjęta za bazą NIST angielska terminologia nazw wykrytych związków chemicznych. Utrudnia to niejednokrotnie zorientowanie się do jakiej grupy należy omawiany w danym miejscu związek. Strona graficzna pracy jest odpowiednia, poza rycinami przedstawiającymi analizę składowych głównych, które są niewyraźne, a nakładające się na siebie oznaczenia są nieczytelne.

Konkluzja

Podsumowując muszę stwierdzić, że otrzymane do oceny opracowanie pt. Związki lotne oraz aktywność inhibitorów trypsyny w liściach kasztanowców (*Aesculus* sp.) różniących się podatnością na szrotówka kasztanowcowiaczka (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić), w mojej opinii nie spełnia wymagań stawianych pracom doktorskim (art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki). Opinię tę formułuję z przykrością mając świadomość dużego wkładu Doktorantki w prace badawcze, trud w napisaniu dysertacji, a także doceniając podjęty w rozprawie problem, który uważam za bardzo interesujący i ważny z naukowego punktu widzenia. Praca naukowa jednak to nie tylko właściwie przedstawiony problem i ciekawe hipotezy, lecz także prawidłowo dobrana metodyka badań i odpowiednia

interpretacja wyników. Tego zabrakło w tym opracowaniu. Brak właściwych powtórzeń i obiektów kontrolnych, których ofiarą padła Doktorantka, sprowadza całe opracowanie do określenia „studium przypadku”. Takie badania, mimo znacznego wkładu pracy i poniesionych kosztów, uniemożliwiają osiągnięcie postawionych celów. Mając powyższe na uwadze wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o niedopuszczenie mgr inż. Mai Paterskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Marian J. Giertych

A handwritten signature in blue ink, reading "Marian Giertych", followed by a stylized flourish.