

Sękocin Stary, 12 sierpnia 2019 r.

Dr hab. Lidia Sukovata
Instytut Badawczy Leśnictwa
Zakład Ochrony Lasu
ul. Braci Leśnej 3
Sękocin Stary
05-090 Raszyn

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Sebastiana Pilichowskiego
**pt. „Ekologiczne aspekty interakcji galasotwórczych przyszczarków *Hartigiola annulipes*
i *Mikiola fagi* z bukiem *Fagus sylvatica*”**
wykonanej na Wydziale Nauk Biologicznych
Uniwersytetu Zielonogórskiego w Zielonej Górze
pod kierunkiem dr. hab. Mariana J. Giertycha, prof. UZ

Relacja „fitofag-roślina” stanowi jeden z kluczowych elementów funkcjonowania różnych rodzajów ekosystemów. W trakcie koewolucji roślina dąży do opracowania mechanizmów odpornościowych chroniących ją przed atakiem fitofaga, podczas gdy celem roślinożercy jest przezwyciężenie tych mechanizmów i wykorzystanie rośliny jako źródła niezbędnych składników pokarmowych w jak największym stopniu. Owady tworzące galasy, np. przyszczarki (Diptera, Cecidomyiidae), osiągnęły w tym zakresie jeszcze większe umiejętności, ponieważ wykorzystują roślinę jednocześnie jako źródło pokarmu oraz materiał do utworzenia miejsca schronienia. Każdy gatunek owada ma swoją strategię opanowania żywiciela, która powinna zapewnić mu największą szansę na przetrwanie i wydanie potomstwa. Gdy dochodzi do konkurencji międzygatunkowej, tworzą się złożone relacje nie tylko między konkurującymi gatunkami, ale również między nimi a rośliną.

W recenzowanej rozprawie doktorskiej Pan mgr Sebastian Pilichowski podjął się poznania interakcji między przyszczarkami dwóch gatunków: *Hartigiola annulipes* Hartig i *Mikiola fagi* Hartig a ich wspólną rośliną żywicielską, tj. bukiem zwyczajnym *Fagus sylvatica* L.

1. Ogólna charakterystyka rozprawy

Niniejsza rozprawa została wykonana w postaci spójnego tematycznie zbioru 3 artykułów:

1. Pilichowski S., Giertych M.J. 2017. Gall abundance and leaf size as factors affecting the hypersensitive reaction in the common beech (*Fagus sylvatica*). *Baltic Forestry*, 23(3): 15-18.

2. Pilichowski S., Giertych M.J. 2018. Does *Hartigiola annulipes* (Diptera: Cecidomyiidae) distribute its galls randomly? *European Journal of Entomology*, 115: 504-511.
3. Pilichowski S., Ulitzka M.R., Jagiełło R., Giertych M.J. (w druku). Plant-mediated interaction: a first record of thrips feeding on *Hartigiola annulipes* (Diptera: Cecidomyiidae) galls. *Polish Journal of Ecology*.

Dwa pierwsze artykuły zostały opublikowane w czasopismach naukowych znajdujących się na liście A określonej przez ministra właściwego do spraw nauki, tj. w czasopismach: *Baltic Forestry* (15 pkt) i *European Journal of Entomology* (30 pkt). Trzeci artykuł, a właściwie notatka badawcza, został złożony do czasopisma *Polish Journal of Ecology*, również z listy A (15 pkt), i zgodnie z informacją przedstawioną przez doktoranta, jest w druku, podczas gdy nie została dołączona informacja z wydawnictwa potwierdzająca ten fakt, a na wydruku artykułu jego status określono jako „received after revision”, tj. otrzymany po poprawkach.

Do artykułów dołączono oświadczenia współautorów o ich wkładzie w badania oraz w pracę nad poszczególnymi artykułami. Zgodnie z oświadczeniami, mgr Sebastian Pilichowski formułował lub brał udział w przygotowaniu koncepcji badań, prowadził prace terenowe, opracowywał zebrany materiał, wykonywał część analiz statystycznych oraz przygotowywał wstępne, a następnie ostateczne wersje manuskryptów. Udział procentowy wkładu pracy wynosił: 90% dla artykułu w *Baltic Forestry*, 85% dla artykułu w *European Journal of Entomology* oraz 70% dla artykułu w *Polish Journal of Ecology*.

Zbiór artykułów został poprzedzony opisem rozprawy umieszczonym na stronach 3-14 i składającym się z następujących nienumerowanych części:

- Spis treści,
- Streszczenie,
- Abstract,
- Zarys badań i podsumowanie,
- Publikacje wchodzące w skład rozprawy,
- Podsumowanie i wnioski,
- Literatura.

W Spisie literatury struktura rozprawy ogranicza się do trzech punktów: Streszczenie, Abstract oraz Zarys badań i podsumowanie.

W Streszczeniach rozprawy (polskiej i angielskiej wersji) przedstawiono krótki opis tematyki badawczej oraz główne wyniki przeprowadzonych badań.

Zdecydowaną większość Rozdziału „Zarys badań i podsumowanie” zajmuje ogólny opis galasów, ich roli w życiu tworzących je owadów oraz biologii i ekologii dwóch z nich: garnusznicy bukowej (*M. fagi*) i hartigiolówki bukowej (*H. annulipes*). W ramach rozważań nad ekologią wymienionych wyżej przyszczarków, przedstawiono dwie hipotezy dotyczące wyboru przez samice miejsca do składania jaj. Pierwsza z nich mówi o wyborze organów, np. liści, o optymalnych rozmiarach, co, z jednej strony, umożliwia uniknąć zbyt silnej reakcji obronnej w przypadku dużego liścia, a z drugiej – zapewnia większą możliwość odpowiedniego rozwoju galasów niż na liściu małym. Druga hipoteza opiera się na wigorze rośliny – zgodnie z nią roślinożercy zasiedlają i żerują na organach największych, które są najbardziej zasobne w substancje odżywcze. W rozdziale wymieniono również poznane dotychczas przyczyny śmiertelności przyszczarków, do których zalicza się reakcję nadwrażliwą ze strony żywiciela roślinnego. Na samym końcu rozdziału Doktorant wskazał na luki w dotychczasowej wiedzy dotyczącej ekologii obu gatunków przyszczarków, co świadczy o jego spostrzegawczości i dociekliwości. W celu uzupełnienia braków w wiedzy zostały zaplanowane doświadczenia testujące 5 hipotez badawczych:

1. Wystąpienie reakcji nadwrażliwej zależy od wielkości liścia i liczby galasów,
2. Warunki świetlne (wyrażone jako specyficzna powierzchnia liścia – SLA) wpływają na rozmieszczenie galasów w koronie buków. Hartigiolówka bukowa zasiedla głównie liście zacienione (o wysokim SLA),
3. Hartigiolówka bukowa unika liści rosnących po stronie południowej,
4. Hartigiolówka bukowa preferuje proksymalną strefę liścia do indukcji galasów,
5. Obecność galasów hartigiolówki bukowej zwiększa szansę obecności żerujących na liściach buka wciornastków.

W Rozdziale „Publikacje wchodzące w skład rozprawy” wymieniono artykuły stanowiące rozprawę oraz zamieszczono streszczenie każdego z nich.

W Rozdziale „Podsumowanie i wnioski” Doktorant sprecyzował 10 wniosków, część z których stanowi podsumowanie wyników.

Spis literatury składa się z 21 pozycji, w tym 13 publikacji zagranicznych, które cytowano w opisie rozprawy.

O szczegółach dotyczących metodyki badań oraz analiz statystycznych można się dowiedzieć jedynie z treści artykułów. Badania terenowe zasadniczo polegały na pobraniu próbek liści buku zwyczajnego z galasami lub bez (w zależności od doświadczenia), z

uwzględnieniem kierunku świata, z różnych lokalizacji w zachodniej Polsce w latach 2014-2016. Liście były poddane szczegółowym badaniom pod kątem m.in.:

- liczby galasów z uwzględnieniem gatunku owada, który je wywołał,
- obecności przebarwienia w miejscach powstania galasów świadczącego o reakcji nadwrażliwej buka,
- liczby galasów hartigiolówki bukowej w różnych strefach liścia,
- odległości między galasami hartigiolówki bukowej a nerwem głównym liścia,
- długości liści,
- suchej masy liści.

Ogólna liczebność liści poddanych badaniom wynosiła kilka tysięcy sztuk. Ogrom wykonanej pracy świadczy o dużej pracowitości i zawzięciu Doktoranta.

Do analizy danych zastosowano różnorodne metody statystyczne, m.in.:

- regresję liniową – do analizy zależności liczby galasów każdego z gatunków pryszczarków od długości liścia, a także liczby wciornastków zidentyfikowanych jako *Liothrips setinodis* (Reuter) od liczby galasów hartigiolówki bukowej,
- regresję logistyczną – do analizy zależności występowania reakcji nadwrażliwej ze strony buku od długości liścia i liczby galasów dla każdego gatunku badanych pryszczarków osobno,
- test χ^2 – do oceny różnic w częstotliwości występowania galasów w poszczególnych strefach blaszki liścia oraz na liściach pochodzących z różnych stron drzewa,
- analizę wariancji – do określenia istotności wpływu pochodzenia liści (tzn. drzewa, z którego pobierano liście), kierunku świata oraz interakcji tych czynników na wartość współczynnika SLA, tj. specyficznej powierzchni liścia wyrażonej stosunkiem powierzchni liścia do jego suchej masy,
- mieszany model liniowy – do analizy wpływu strefy i powierzchni liścia oraz liczby galasów na odległość miejsc powstania galasów od nerwu głównego liścia,
- uogólniony mieszany model liniowy z funkcją wiążącą logit i dwumianowym rozkładem zmiennej zależnej – do oceny zależności obecności wciornastków od obecności na liściach galasów hartigiolówki bukowej.

2. Uwagi o charakterze redakcyjnym

Uwagi redakcyjne dotyczą głównie części opisowej rozprawy, ponieważ artykuły, które zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach, były poddawane ocenie przez recenzentów i redaktorów tych czasopism. W tym ostatnim kontekście chciałabym jednak zasugerować sprawdzenie poprawności języka angielskiego przez native speakera w artykule opublikowanym w czasopiśmie *Baltic Forestry* przed wysłaniem go do redakcji czasopisma.

Struktura części opisowej rozprawy jest niejasna ze względu na brak numeracji rozdziałów oraz rozbieżność liczby rozdziałów w treści rozprawy z liczbą wymienioną w spisie treści.

Wprowadzenie do problematyki jest zbyt obszerne względem wyników badań. Zabrakło w nim sprecyzowania celu badań, ale ten brak w pewnym zakresie kompensuje wypunktowanie przez Doktoranta luk w dotychczasowej wiedzy dotyczącej ekologii wybranych do badań gatunków pryszczarków. Wskazane byłoby, żeby rozprawa doktorska przygotowana w postaci zbioru artykułów zawierała krótki opis nie tylko podjętej problematyki i głównych wyników, ale i metodyki wykonywania badań, w tym analiz statystycznych.

Mimo względnie krótkiej części opisowej rozprawy, w tekście poszczególnych rozdziałów stwierdzono dość liczne błędy gramatyczne, np. w samym streszczeniu w języku polskim: 1) już w drugim wierszu zabrakło litery „i” w słowie „tworzącymi” – napisano „... a owadami tworzącym galasy na liściach”, 2) przy podawaniu nazw łacińskich rodziny i rzędu, do których należą pryszczarki, najpierw użyto nazwy rodziny, a po niej rzędu, rozdzielając je średnikiem, podczas gdy należy podać najpierw nazwę rzędu, a po dwukropku lub przecinku podać nazwę rodziny, 3) w przedostatnim wierszu zamiast słowa „liczby” napisano słowo „liczny”. Z większą starannością, szczególnie pod względem stylistycznym, należałoby sformułować wnioski, przykładowo wniosek 2 ma brzmienie: „Istnieje bardzo słaba zależność ujemna istotna statystycznie pomiędzy długością blaszki liścia buka zwyczajnego a liczbą galasów *M. fagi* oraz bardzo słaba pozytywna zależność tego rodzaju dla *H. annupiles*”. Proponowałabym następujące sformułowanie: „Stwierdzono bardzo słabą, ale statystycznie istotną ujemną zależność liczby galasów *M. fagi* od długości blaszki liściowej buka zwyczajnego. Podobną, ale dodatnią zależność wykazano dla *H. annupiles*”.

Przy opisie artykułów stanowiących rozprawę należałoby podać do jakiej listy (A lub B) należały czasopisma zgodnie z wykazem określonym przez ministra właściwego do spraw nauki oraz liczbę punktów przydzielonych danemu czasopismu.

3. Uwagi merytoryczne

Poniżej przedstawiono główne uwagi merytoryczne.

1. Jedną z hipotez badawczych było założenie, że warunki świetlne (wyrażone jako specyficzna powierzchnia liścia – SLA) wpływają na rozmieszczenie galasów w koronie buków, a w szczególności, że hartigiolówka bukowa zasiedla głównie liście zacięzione, o wysokim SLA. W artykule poświęconym m.in. temu zagadnieniu nie wykonano analizy bezpośredniej zależności liczby galasów hartigiolówki bukowej od wielkości współczynnika SLA, lecz: 1) zależności liczby galasów od kierunku świata, z którego pobrano liście, na każdej powierzchni badawczej osobno oraz 2) zależności SLA od kierunku świata i lokalizacji powierzchni. Wyniki uzyskane w pierwszym przypadku nie były jednoznaczne i w dużym stopniu zależały od lokalizacji, a tym samym specyfiki powierzchni badawczej. W Dyskusji zamieszczonej w artykule autorzy sami zwracają uwagę, że na jakość liści mógł mieć wpływ nie sam kierunek świata, lecz otoczenie drzewa/powierzchni. Bezpośrednia analiza zależności liczby galasów od SLA pozwoliłaby uwzględnić rzeczywisty poziom nasłonecznienia/zacienienia liści.
2. W związku z uwagą w punkcie 1, wniosek nr 7 o tym, że „Warunki świetlne wzrostu liści wyrażone specyficzną powierzchnią liścia (SLA) nie tłumaczą rozmieszczenia galasów *H. annulipes* w obrębie koron młodych buków” jest oparty na wynikach analiz zależności pośrednich, a nie bezpośrednich.
3. Nie jest zrozumiałe co Doktorant ma na myśli lub na jakiej podstawie sformułował wniosek nr 5 o następującym brzmieniu „*H. annulipes* zakłada galasy losowo w obrębie koron młodych buków (piętro podszytu)”, podczas gdy w publikacji stwierdzono istotny wpływ kierunku świata, mimo że innego na poszczególnych powierzchniach badawczych. Wskazane byłoby przerehabilitować ten wniosek, uwzględniając rolę otoczenia powierzchni badawczych i/lub drzew próbnych, zwłaszcza że wniosek 6 również dotyczy omawianego zagadnienia.
4. Do analizy wyników badań, w których zmienną zależną jest zmienna w postaci liczby określającej częstość wystąpienia danego zjawiska (liczba galasów, liczba owadów, itd.), zamiast regresji liniowej zaleca się stosowanie modeli z rozkładem Poissona lub ujemnym dwumianowym. Zmienne tego rodzaju zazwyczaj nie spełniają założeń normalności rozkładu i jednorodności wariancji wymaganych przy stosowaniu regresji liniowej.


5. Wykorzystanie w analizach statystycznych zbyt licznej próby powoduje, że większość stosowanych testów statystycznych wykaże istotność różnic, nawet przy najmniejszych różnicach, np. zastosowanie regresji liniowej do analizy zależności liczby galasów dwóch gatunków przyszczarków od długości liścia przy liczbie pomiarów przekraczającej trzy tysiące spowodowało uzyskanie statystycznie istotnych współczynników korelacji, mimo bardzo niskich ich wartości (patrz artykuł w *Baltic Forestry*). Podobny brak odporności na wielkość próby ma test χ^2 . Należałoby np. zmniejszyć liczebność próby branej do analiz statystycznych poprzez np. warstwowe losowe próbkowanie z większego zbioru danych.

Wymienione powyżej uwagi nie umniejszają jednak znaczenia wykonanych prac, co zostało potwierdzone poprzez opublikowanie ich w czasopismach znajdujących się na liście z bazy Web of Science Core Collection, lecz mogą być przydatne w przyszłych badaniach i przygotowaniu nowych publikacji do druku.

Ocena końcowa

Rozprawa doktorska Pana mgr. Sebastiana Pilichowskiego jest oryginalnym opracowaniem o dużym znaczeniu poznawczym w zakresie relacji między bukiem zwyczajnym a tworzącymi na liściach galasy przyszczarkami: garnusznicą bukową i hartigiolówką bukową. Na szczególne podkreślenie zasługuje zbadanie reakcji nadwrażliwej buka, jako mechanizmu obronnego rośliny, na zasiedlenie przez każdego z tych gatunków owadów osobno. Poza tym, po raz pierwszy wykryto relację między występowaniem roślinożernych wciornastków a obecnością galasów na liściach buka. Wysoko należy ocenić ogólną wiedzę Doktoranta w zakresie badanych zagadnień, a w szczególności w zakresie mechanizmów odporności roślin na owady oraz preferencji co do wyboru miejsca składania jaj przez samice owadów tworzących galasy. Obszerny zakres przeprowadzonych doświadczeń oraz uzyskane wyniki i ich interpretacja wskazują na umiejętność Doktoranta samodzielnie prowadzić pracę naukową.

W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr. Sebastiana Pilichowskiego spełnia wymogi określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i wnoszę o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Dr hab. Lidia Sukovata