Prof. dr hab. Józef Tworkowski
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
UWM w Olsztynie
jtwor@uwm.edu.pl

Recenzja

pracy doktorskiej Pani mgr inż. Małgorzaty Strzelczyk pt. "Wpływ terminu zbioru na plony biomasy oraz zawartość kannabinoidów w wybranych genotypach konopi włóknistych"

Recenzję wykonano na podstawie pisma Pani prof. dr hab. Anny Kryszak, Dziekan Wydziału Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Praca doktorska wykonana została w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu, pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Hanny Sulewskiej oraz promotora pomocniczego Pani dr hab. Katarzyny Panasiewicz.

Uprawa konopi włóknistych była prowadzona od dawna i kojarzona głównie z przemysłem włókienniczym. W latach 60-tych XX wieku uprawiano w Polsce do 30 tysięcy ha konopi. Wprowadzenie włókien syntetycznych w miejsce tkanin naturalnych w latach 90-tych XX w. spowodowało upadek przemysłu włókienniczego. Ponadto negatywny stosunek do konopi, powodowany kampanią antynarkotykową, oraz powstałe akty prawne mające na celu przeciwdziałanie narkomani, doprowadziły do zmniejszenia powierzchni uprawy do wielkości marginalnych. Wprowadzone w ostatnich latach wsparcie, w postaci dopłat unijnych związanych z produkcją konopi, wpisanie konopi na listę gatunków do dywersyfikacji upraw w ramach zazielenienia oraz zmiany w ustawie o przeciwdziałaniu narkomanii, ułatwiające uzyskanie pozwolenia na uprawę i skup konopi wyraźnie zwiększyły zainteresowanie uprawą tego niezwykle cennego gatunku.

W krajach Unii Europejskiej dopuszczalna jest uprawa konopi włóknistych u których w kwiatowych lub owocujących wierzchołkach roślin, z których nie usunięto żywicy zawartość delta-9-tetra-hydrokannabinolu (Δ^9THC) oraz kwasu tetrahydrokannabinolowego, nie przekracza 0,20% w suchej masie. Właściwości lecznicze przypisuje się psychoaktywnemu Δ^9THC oraz innym nie psychoaktywnym kannabinoidom nie będących na liście zakazanych substancji w tym CBD i Δ^8THC.

Dlatego prace hodowlane obok utrzymania ustabilizowanej jednopienności konopi, skierowane są nad uzyskaniem śladowej zawartości Δ^9THC (do 0,20% w s.m.) a jednocześnie o podwyższonej zawartości innych kannabinoidów w tym CBD i Δ^8THC.

Dobrze więc, że w ocenianej pracy uwzględniono również nowe rody, jeszcze nie zarejestrowane jako odmiany, które mogą różnić się nie tylko podstawowymi cechami rolniczo-użytkowymi, ale również zawartością substancji biologicznie czynnych. Zawartość tych substancji może być zróżnicowana fazą rozwojową roślin oraz warunkami środowiskowymi.

Recenzowana praca nawiązuje do powyższej hipotezy i dotyczy porównania 3 odmian konopi włóknistych zbieranych w różnych fazach rozwojowych roślin, pod względem cech rolniczo-użytkowych ze szczególnym uwzględnieniem zawartości kannabinoidów a także celulozy konopnej i olejków eterycznych. Ze względu na wzrost zainteresowania uprawą konopi oraz szerokie wykorzystanie konopi do różnych celów w tym medycznych, badania Autorki pracy uznaję za bardzo aktualne, cenne i uzasadnione .

Oceniana praca liczy 213 stron maszynopisu, w tym 47 tabel, 28 wykresów, 2 rysunki i 22 fotografie zamieszczone w tekście. Spis literatury zawiera łącznie 311 pozycji w tym 218 w językach obcych głównie angielskim.
W pracy wyodrębniono 10 podstawowych rozdziałów, typowych dla tego rodzaju prac.

Temat pracy "Wpływ terminu zbioru na plony biomasy oraz zawartość kannabinoidów w wybranych genotypach konopi włóknistych" w zasadzie odzwierciedla jej treść, a tytuły rozdziałów i podrozdziałów treści w nich zawarte. Jednak podane w tytule pracy określenie " w wybranych **genotypach** konopi włóknistych" w odniesieniu do badanych odmian/rodów konopi jest dyskusyjne, aczkolwiek spotykane w literaturze. W dalszej części pracy Autorka traktowała ten czynnik doświadczenia jako wpływ odmian i nie nawiązywała do "genotypów" zawartych w tytule .

Wstęp pracy zwiera skondensowane informacje o możliwościach wykorzystania konopi do rożnych celów, w tym: włókienniczych, jako surowiec olejarski, na paszę, do produkcji żywności, biokompozytów, materiałów budowlanych, wyrobów papierniczych, kosmetyków, suplementów diety, parafarmaceutyków i farmaceutyków. Podkreślone zostały właściwości badanych w pracy kannabinoidów

oraz innych specyficznych substancji zawartych w konopiach i możliwości ich wykorzystanie w medycynie. Ponieważ na plon biomasy konopi oraz na zawartość w nich substancji biologicznie czynnych mogą mieć wpływ czynniki środowiskowe, agrotechniczne oraz cechy odmianowe, wskazano na potrzebę lepszego poznania tych zależności, w celu opracowania zaleceń agrotechnicznych tego ciekawego gatunku.

Przegląd literatury zajął 54 strony pracy. Autorka opisała tu konopie bardzo wszechstronnie wykazując się dużą wiedzą i znawstwem literatury. Opis zawiera historię uprawy konopi, ich pochodzenie, wieloaspektową systematykę konopi , powierzchnię uprawy w różnych krajach Europy, krótką charakterystykę polskich odmian będących aktualnie w Krajowym Rejestrze. Szczegółowo przedstawiona jest charakterystyka botaniczna poszczególnych części roślin konopi w tym systemu korzeniowego, łodyg, liści, kwiatów i owoców. Aspekt agrotechniczny naświetlony został przez wymagania pokarmowe, wodne i cieplne konopi, dobór gleby, przedplonu, nawożenia i uprawy gleby oraz terminu i ilości wysiewu. Zabrakło mi tu opisu elementów związanych ściśle z tematem pracy (plony biomasy, wpływ terminu zbioru) , ale to zostało uwzględnione w rozdziale dyskusja.
Szeroko opisane zostały szerokie możliwości wykorzystania konopi w tym włókna, paździerzy, liści. Przedstawiono charakterystykę specyficznych zawiązków zawartych w konopiach czyli kannabinoidów, ich wykorzystanie w medycynie. Uwzględniono też aspekty prawne uprawy konopi włóknistych.

Cel badań i hipoteza badawcza przedstawiona została krótko ale właściwie.

Metodyka badań zawiera informację, że praca oparta jest na wynikach trzyletnich doświadczeń polowych prowadzonych w latach 2007-2009 w Zakładzie Doświadczalnym IWNiRZ w Pętkowie oraz badaniach w Specjalistycznych Laboratoriach Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu. Czynnikami doświadczenia polowego były: 3 odmiany konopi włóknistych (IWNiRZ 6, IWNiRZ 2, Białobrzeskie) oraz 5 terminów zbioru roślin (I - 30, II - 50, III - 70dni po siewie oraz IV - w pełni kwitnienia i V - w dojrzałości pełnej orzeszków).
Sposród 3 badanych odmian/rodów aktualnie tylko Białobrzeskie są w Krajowym Rejestrze. Pozostałe dwa rody hodowlane nie zostały dotychczas zarejestrowane. Jaki jest ich aktualny status?. Dobór terminów zbioru można uznać za właściwy. Przy podawaniu poszczególnych terminów można było już w metodyce podać ich rozpiętość w latach: np. termin I- (32 - 33) - dalej w pracy 30 dni po siewie, II- (46-

49)- dalej w pracy 50 dni po siewie, III- (69 - 76)- dalej w pracy 70 dni po siewie itd. co podane jest w tab.9.

Obserwacje i pomiary cech morfologicznych oraz wysokość plonów wykonano poprawnie. Wysokość roślin, plon s.m. całych roślin i słomy określono dla wszystkich terminów zbioru, długość techniczną słomy, średnicę łodyg oraz plon s.m. wiech tylko dla roślin z IV i V terminu zbioru. Podobnie zawartość kannabinoidów w s.m liści zbadano u roślin zebranych w terminach I - IV a w s.m. wiech z roślin zebranych w terminach IV - V. Zapowiadane w metodyce dwukrotne liczenie obsady roślin nie ma odzwierciedlenia w wynikach.

Analizy laboratoryjne dotyczące zawartości kannabinoidów, olejków eterycznych, celulozy, zawartości tłuszczu surowego oraz kwasów tłuszczowych i popiołu w orzeszkach przeprowadzono wg. opisanych w metodyce instrukcji stosowanych w wyspecjalizowanych pracowniach IWNiRZ.

Wyniki badań poddano ocenie statystycznej, stosując analizę wariancji oraz rachunek korelacji i regresji (jednak tej ostatniej nie znalazłem w pracy).

W rozdziale "Warunki prowadzenia doświadczeń" omówiono warunki glebowe i pogodowe. Doświadczenia w poszczególnych latach zakładano na glebach o zróżnicowanej zasobności w fosfor potas i magnez. Zapewne dlatego zastosowano zróżnicowane nawożenie fosforowe i potasowe. Warunki pogodowe opisano prawidłowo w oparciu o średnie temperatury powietrza i sumy opadów oraz współczynniki hydrotermiczne dla dekad i poszczególnych miesięcy w okresie wegetacji.

"Wyniki badań" opisane zostały na 64 stronach maszynopisu, aczkolwiek znaczna część stron nie była wypełniona całkowicie.

Opis wyników dotyczył badanych cech morfologicznych, wysokości plonów suchej masy całych roślin, słomy, wiech, liści, orzeszków . Ważnym elementem pracy było przedstawienie zawartości kannabinoidów Δ^9THC, CBD, Δ^8THC w suchej masie wiech i liści a także obliczenie ich potencjalnych plonów, oraz korelacji z warunkami hydro-termicznymi w okresie wegetacji. Ponadto omówiono zawartość olejków eterycznych w świeżej i suchej masie wiech, zawartość celulozy w łodygach, oraz zawartość kwasów tłuszczowych, tłuszczu i popiołu w orzeszkach konopi.

Rozdział ten napisany został w sposób niestandardowy i chyba nadmiernie rozdrobniony na podrozdziały. Autorka przyjęła następujący schemat opisu wyników. Najpierw na wynikach średnich z 3 lat (przedstawionych na wykresach lub tabelach,

z podaniem wartości NIR), opisuje fragmentarycznie wpływ czynników doświadczenia na poszczególne cechy. W kolejnym podrozdziale przedstawione są charakterystyki statystyczne dla poszczególnych odmian, uwzględniające wartości : "min, max " (w domyśle wybrane z okresu 3lat z uwzględnieniem wpływu terminu zbioru), oraz "średnia, odchylenie standardowe, współczynnik zmienności" większości badanych cech. Autorka odnosi się więc tu ponownie do tego o czym pisała wcześniej, wspierając się innymi miarami statystycznymi. W następnym podrozdziale powraca do korelacji pomiędzy opisywanymi już wcześniej cechami a średnią temperaturą i sumą opadów w okresie wegetacji. Zapewne chodziło tu Autorce o ustalenie wpływu warunków atmosferycznych na kształtowanie się badanych cech, lecz ograniczyła się tu do podania współczynników korelacji. Do wszystkich tych podrozdziałów powraca w rozdziale "Dyskusja".

Moim zdaniem przejrzyściej i łatwiej można byłoby przedstawić wyniki opisując każdą cechę w jednym podrozdziale, uwzględniając treści zawarte w ocenianej pracy w 3 podrozdziałach. Uniknęłaby wtedy Autorka powtórzeń i niestety licznych niezgodności które wystąpiły pomiędzy wynikami podanymi w różnych podrozdziałach a dotyczyły tej samej cechy. Opis niektórych cech jest fragmentaryczny, zawiera bowiem informację tylko o wpływie jednego z czynników doświadczenia. Już przy omawianiu pierwszej cechy jaką była wysokość roślin konopi dowiedziałem się (co oczywiste), że wyższe były rośliny zbierane w fazie dojrzałości niż 30 dni po siewie. Natomiast po przeczytaniu całej pracy nie wiadomo której odmiany rośliny były wyższe.
Szkoda, że Autorka nie zachowała zasady tej samej kolejności opisu wpływu czynników i ich współdziałania na daną cechę.

"Dyskusja " napisana została na 27 stronach maszynopisu. Jest tu szerokie uzupełnienie literatury opisanej we wcześniejszym rozdziale, oraz konfrontacja wyników własnych z uzyskanymi przez innych autorów. Przedstawiono wpływ różnych czynników, nie tylko uwzględnianych w badaniach własnych, na kształtowanie się cech morfologicznych oraz plon ogólny biomasy, słomy, liści, wiech i orzeszków konopi. Dużo uwagi poświecono zawartości kannabinoidów Δ^9THC , CBD, $\Delta^{8,}$ THC w badanych częściach roślin, czyli wiechach i liściach a także w łodygach i korzeniach. Skonfrontowano z piśmiennictwem również wyniki

własne dotyczące zawartości celulozy, olejków eterycznych oraz innych związków bioaktywnych w konopiach.

"Wnioski" zredagowane zostały w sposób zbyt opisowy i rozwlekły, powtarzający niekiedy te same informacje. Np. we wniosku 1. pierwsze zdanie niczego nie wnosi. Ostatnie zaś zdanie informujące, że."Odmianą najwyżej plonującą okazała się odmiana Białobrzeskie" pokrywa się z kolejnym zdaniem wniosku 2."Odmiana Białobrzeskie wytworzyła większe plony s.m. słomy niż pozostałe dwie odmiany, plonujące na zbliżonym poziomie".

Proponowałbym wyeliminowanie niewiele wnoszących wstępów we wnioskach powtarzających się informacji oraz mało istotnych informacji.

Zabrakło mi wniosku podsumowującego, dotyczącego zaleceń agrotechnicznych, o czym pisze Autorka w ostatnim zdaniu wstępu.

Streszczenie, poza dwoma pierwszymi akapitami jest wierną kopią wniosków.

Dużym walorem pracy jest szeroko przedstawiona literatura, zarówno w przeglądzie jak i dyskusji. Połączenie i usystematyzowanie treści tych dwóch rozdziałów może stanowić ciekawą publikację, przedstawiającą wieloaspektowo ten fascynujący gatunek rośliny.

Autorka wykazała się bardzo dużym nakładem pracy w przeprowadzenie eksperymentu polowego, wykonaniem specjalistycznych analiz laboratoryjnych oraz opracowaniem wyników i zredagowaniem rozprawy. Praca zawiera ciekawe informacje dla plantatorów oraz przetwórstwa w aspekcie medycznego wykorzystania konopi.

Do ważniejszych efektów pracy zaliczam wykazanie, że:

- Rośliny najstarszej z zarejestrowanych odmiany Białobrzeskie miały największą długość techniczną słomy i wydały wyższe plony suchej masy całych roślin i słomy od IWNiRZ 6 oraz IWNiRZ 2.
- Odmiana IWNiRZ 2 okazała się najbardziej przydatna do uprawy na nasiona z powodu najwyższego ich plonu.
- We wszystkich badanych odmianach zawartość Δ^9THC nie przekroczyła dopuszczalnej wartości 0,20 %.
- Badane odmiany nie różniły się zawartościąΔ^9THC w liściach .

- Wiechy roślin odmiany Białobrzeskie zawierały o ponad połowę mniej Δ^9THC od IWNiRZ 6, jednocześnie zawierały najwięcej Δ^8THC oraz olejków eterycznych. Natomiast liście tej odmiany charakteryzowały się najwyższą zawartością i potencjalnym plonem CBO.
- W wiechach odmiany IWNiRZ 6 była najwyższa zawartość Δ^9THC a w orzeszkach tej odmiany najwyższa zawartość kwasu oleinowego.
- Wiechy roślin odmiany IWNiRZ 2 zawierały najmniej Δ^9THC i olejków eterycznych.
- Terminy zbioru różnicowały plon biomasy konopi. Odmiany Białobrzeskie i IWNiRZ 2 najwyższy plon suchej masy wydały, gdy zbierano je w fazie pełni kwitnienia, zaś odmiana IWNiRZ 6 przy wcześniejszym zbiorze dokonanym w 70 dni po siewie.
- Termin zbioru roślin nie różnicował zawartości Δ^9THC w wiechach ani liściach
- Przy zbiorze konopi w terminie 70 dni od siewu w liściach stwierdzono najwyższą zawartość CBO a w łodygach najwięcej celulozy.

Praca zawiera niestety błędy, lub elementy dyskusyjne, a ważniejsze z obowiązku recenzenta przedstawiam poniżej.

W tekście pracy (str. 20, 35,38, 40) jest powołanie się do Ustawy o nasiennictwie, podczas gdy dotyczy to spraw zawartych w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz.U.2013r.poz 517) wydanym na podstawie cytowanej ustawy.

str. 41. Autorka powołując się na literaturę podaje " ..zapotrzebowanie na wodę do produkcji 1 kg suchej masy wynosi około 600-700 mm, a optymalna ilość opadów powinna wynosić 250-300 mm." - proszę o komentarz.

str. 89. W tab.8 podano dawki czystych składników, rodzaje nawozów z procentową zawartością oraz ich dawki. Niestety dawki nawozów fosforowych i potasowych nie zgadzają się w żadnym roku z dawkami czystego składnika. Które więc zastosowano?

str. 90. W 3 zdaniu podano, że w 2007 r. pełne wschody nastąpiły po 7 dniach a dotyczyło to początku wschodów.

str. 91. w tab.9 brak legendy do odmian

str. 92. W podanej na końcu tekstu wysokości 234,3 cm jest błąd, prawidłowa wysokość to 324,3cm

str.101. W ostatnim zdaniu podano że .." spadek plonu s.m. słomy o 4,14 tha^{-1} (27,6%), który był nieistotny statystycznie" , podczas gdy podany $NIR_{0,05}$ wynosił 0,916 i różnice były istotne.

str. 102. Część danych na wykresie11 nie pokrywa się z tab.14 str.112, w której dodatkowo zamiast tha^{-1} podano %.

str.115 Część danych na wykresie 19 jest niezgodnych z tab. 22 str. 133

str.116. W tab.15 jest zła średnia dla odmiany Białobrzeskie, niezgodna z tab. 23 str. 134.

str. 119 W tab.16 w tytule podano Δ^9THC a w nagłówku tab. Δ^8THC

str. 123 dane na wykresie 24 nie zgadzają się z zawartymi w tab. 28 str. 139

str. 131 W tab. 20 średnie plony Δ^9THC uzyskane z liści wszystkich odmian oraz uzyskane z wiech odmiany IWNiRZ2 nie zgadzają się z obliczonymi na podstawie plonów tych części roślin i % zawartości tego kannabinolu. Ta sama uwaga dotyczy następnej tab.21 dotyczącej wszystkich średnich plonów CBD (wyliczenia recenzenta w tekście pracy).

Dość liczne błędy, literówki zaznaczyłem w tekście pracy.

Mam też wątpliwości dotyczące analiz statystycznych a mianowicie:

W tabelach 20-27 dotyczących plonów i zawartości poszczególnych kannabinoidów, podane współczynniki zmienności były bardzo wysokie (nawet ponad 200%). Czy zatem przeprowadzona analiza statystyczna jest poprawna, skoro przy takiej zmienności analizowane cechy nie spełniają założeń rozkładu normalnego a pokazane analizy statystyczne są parametryczne?

Chciałem też zapytać na ilu parach porównań (np. plon s.m. wiech, czy orzeszków itd. a suma opadów, średnia temp. w okresie wegetacji) wyliczono współczynniki korelacji? Zakładając ze były 3 lata badań, można wnioskować ze były 3 pary porównań. Czy obliczone współczynniki korelacji (Pearsona?) przy tak małej liczbie par upoważniają do wyciągania poprawnych wniosków?

Ponadto, w niektórych tabelach zaznaczano *"gwiazdką" istotną korelację a w innych nie, Czy zatem przy braku istotnego współczynnika korelacji, uzasadniony jest komentarz w tekście mówiący o dodatniej lub ujemnej korelacji (patrz str. 100,104, 107, 143, 144,146, 150, 151..)?

Pomimo wykazania krytycznych bądź dyskusyjnych uwag, praca stanowi oryginalne opracowanie problemu naukowego. Kandydatka wykazała wiedzę

teoretyczną oraz umiejętności wykonania prac naukowych opartych o eksperymenty polowe i laboratoryjne .

W moim przekonaniu praca mgr inż. Małgorzaty Strzelczyk pt. "Wpływ terminu zbioru na plony biomasy oraz zawartość kannabinoidów w wybranych genotypach konopi włóknistych" dotyczy zagadnień z zakresu nauk rolniczych i mieści się w dyscyplinie agronomia oraz spełnia wymogi Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003r. nr 65, poz. 595. z uwzględnieniem wprowadzonych zmian).

Wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr inż. Małgorzaty Strzelczyk do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

Olsztyn 6.02. 2018

prof. dr hab. Józef Tworkowski