

Bydgoszcz, 29.04.2020 r.

Dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk, prof. uczelni
Pracownia Fitopatologii i Mykologii Molekularnej
Katedra Biologii i Ochrony Roślin
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Darii Nowak pt. „Ocena możliwości chemicznego zwalczania *Oculimacula* spp.” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Tomasza Kosiady

Grzyby rodzaju *Oculimacula*, w tym *O. aciformis* i *O. yallundae*, wcześniej określane jako *Pseudocercospora herpotrichoides* typy R i W, należą do jednych z najważniejszych patogenów zbóż, powodujących chorobę; lamliwość źdźbła zbóż i traw. Patogeny te porażają głównie zboża ozime, zwłaszcza pszenicę i pszenżyto, następnie jęczmień i żyto, rzadziej owies, a także kilkadziesiąt gatunków traw należących do 8 rodzajów, w tym chwasty. Straty w plonie ziarna powodowane przez te grzyby mogą być znaczne, sięgające kilkudziesięciu procent. W warunkach wzmożonego występowania *Oculimacula* spp. podstawowym zabiegiem ich zwalczania jest stosowanie skutecznych fungicydów. Wobec tego Doktorantka dokonała słusznego wyboru podejmując się wykonania oceny możliwości chemicznego zwalczania grzybów rodzaju *Oculimacula* w uprawie pszenicy ozimej, którą przeprowadziła w dwóch lokalizacjach oraz w warunkach laboratoryjnych.

Przedstawiona do oceny rozprawa Pani mgr Darii Nowak jest zredagowana poprawnie. Składa się z 93 numerowanych stron znormalizowanego maszynopisu, w tym zawiera 21 tabel, 10 rycin i 10 fotografii. Struktura rozprawy została opracowana w układzie klasycznym dla prac doktorskich, według ogólnie przyjętego schematu, typowego dla wieloaspektowej pracy empirycznej. Całość materiału opisowego podzielono na 10 logicznie następujących po sobie głównych rozdziałów merytorycznych: 1. Wstęp, 2. Cel pracy, 3. Przegląd literatury, 4. Materiał i metody, 5. Obliczenia statystyczne, 6. Charakterystyka danych meteorologicznych, 7. Wyniki, 8. Dyskusja, 9. Podsumowanie, 10. Literatura. Ponadto w ramach rozdziałów 3., 4., 6. i 7. wyodrębniono szereg podrozdziałów oraz mniejszych jednostek redakcyjnych, co zwiększa czytelność, ułatwia analizę omawianych treści i jest zgodne z przyjętym układem dla prac naukowobadawczych i doktorskich. Moim zdaniem w pracy brakuje streszczenia. Rozdział ten pozwoliłby w pełni oddać istotę i najważniejsze treści. Ponadto pokazałby czy Autorka posiada umiejętność wychwycenia najważniejszych efektów wykonanych przez siebie badań. Ponadto zamieszczanie w opracowaniach naukowych streszczenia, zarówno w języku polskim jak i angielskim, jest już standardem.

We wstępie Doktorantka w sposób zwięzły i zrozumiały wprowadza czytelnika w tematykę podjętych badań, pokrótce informuje o problemach związanych

z występowaniem chorób, w tym głównie łamliwości źdźbła zbóż i traw. W trafny sposób uzasadnia sensowność podjęcia badań. Cel pracy dobrze sformułowany i w toku badań został osiągnięty.

W Przeglądzie literatury Autorka słusznie wyodrębniła cztery podrozdziały, wykorzystując pozycje literatury dobrane odpowiednio do studiowanego zagadnienia i właściwego tematu badawczego. Na początku przybliżyła problem związany z klasyfikacją i nazewnictwem, stosowanym na przestrzeni lat, omawianych w pracy grzybów rodzaju *Oculimacula*. W dalszej kolejności przybliżyła etiologię i epidemiologię łamliwości źdźbła zbóż i traw. Zwróciła uwagę na istotną rolę warunków pogodowych odgrywających w rozwoju *Oculimacula*, jak również terminu siewu, przedplonu, obsady roślin, zabiegów uprawowych i warunków glebowych. Wspomniała o zróżnicowaniu gatunków *Oculimacula*, dotyczącym między innymi morfologii, tempa wzrostu liniowego grzybni oraz kształtu i wielkości zarodników konidialnych. Jednak podane na stronie 8., wiersze 19-22, stwierdzenie „Pierwsze konidia *Oculimacula* ...” wydaje się niezbyt trafne ponieważ nazwa rodzajowa grzybów *Oculimacula* odnosi się do stadium płciowego, natomiast „konidia” są wytwarzane przez stadium bezpłciowe. Stąd też przydała by się w tym miejscu drobna korekta. Co do pozostałej części rozdziału, w którym opisano objawy chorobowe łamliwości źdźbła zbóż i traw oraz metody ograniczania występowania tej choroby, nie mam zastrzeżeń.

W rozdziale tym opisano wpływ zabiegów agrotechnicznych na występowanie omawianej choroby, jednakże szczególną uwagę zwrócono na dobór odmian mniej podatnych oraz możliwości wykorzystania genów odporności *Pchl* i *Pch2*, bardzo pożądanym w hodowli odpornościowej odmian pszenicy. Jednak Autorka zaznacza, iż nadal podstawową metodą ograniczania występowania łamliwości źdźbła zbóż i traw jest stosowanie skutecznych fungicydów, o różnych mechanizmach działania, należących do różnych grup chemicznych.

Pomimo drobnych nieścisłości uważam, że przedstawiony przegląd literatury jest przeprowadzony poprawnie, wykorzystanie literatury właściwe, a analiza poglądów prawidłowa. Doktorantka dowiodła tym swojej szerokiej wiedzy z zakresu fitopatologii oraz dobrego opanowania zagadnień będących przedmiotem badań własnych. Szkoda, że przeglądzie piśmiennictwa sporo jest pozycji starszych. Moim zdaniem w przypadku opracowywania niektórych wątków można było skorzystać także z krajowych, często młodszych opracowań naukowych. Badania prowadzone w różnych ośrodkach naukowych w Polsce również dostarczają informacji na temat możliwości ograniczenia występowania łamliwości źdźbła zbóż i traw.

Osiągnięcie założonego celu wymagało zgromadzenia i przygotowania odpowiedniego materiału badawczego oraz szczegółowych i specjalistycznych badań, których wykonanie Doktorantka podała w rozdziale Materiał i metody. Oceniana rozprawa doktorska obejmuje obserwacje polowe i prace laboratoryjne. Z uwagi na zakres badań i związaną z tym konieczność zastosowania różnych metod, Autorka wyodrębniła w tym rozdziale dwa

podrozdziały i pięć mniejszych jednostek redakcyjnych. Dzięki takiemu podejściu miejsce prowadzenia badań, materiał badawczy, sposób założenia doświadczeń oraz wykonania obserwacji, analiz i pomiarów przedstawiono odpowiednio.

W pracy użyto prawidłowych metod badawczych, właściwie dobranych i zastosowanych, nie budzących zastrzeżeń merytorycznych. Autorka opisała sposoby przeprowadzania eksperymentów, uwzględniając wszystkie niezbędne metodyki, przez ich opisanie bądź podanie źródła literaturowego. W swych badaniach stosowała metody klasyczne, jak również nowoczesne, z wykorzystaniem technik molekularnych i testów serologicznych.

W badaniach polowych materiał badawczy stanowiły rośliny pszenicy ozimej uprawianej w dwóch doświadczeniach ścisłych, założonych w województwie zachodniopomorskim w miejscowości Tetyń oraz w województwie pomorskim, w Cisach. W doświadczeniach tych zastosowano po 10 obiektów badawczych, w których wyodrębniono obiekt kontrolny i 9 obiektów, w których zastosowano fungicydy zawierające różne substancje czynne (prochloraz, karbendazym, tebukonazol, cyprodynil, metrafenon, protiokonazol z biksafenem, protiokonazol ze spiroksaminą, boskalid z epoksykonazolem, epoksykonazol z metkonazolem). Dokładne dane dotyczące warunków agrotechnicznych prowadzenia doświadczeń zaprezentowano w 3 tabelach. Ocenę skuteczności poszczególnych wariantów ochrony dokonano na podstawie oceny makroskopowej nasilenia występowania objawów chorobowych łamliwości źdźbła zbóż i traw, którą uzupełniono przy pomocy testu ELISA.

Badania laboratoryjne przeprowadzono na materiale roślinnym, który w latach 2012-2015 pobierano w różnych rejonach województwa zachodniopomorskiego i pomorskiego z roślin pszenic ozimych z widocznymi objawami łamliwości źdźbła zbóż i traw. Z próbek tych wyodrębniono 45 izolatów *Oculimacula*, które wykorzystano w dalszych badaniach, w tym dotyczących wpływu fungicydów na tempo wzrostu liniowego grzybni dwóch gatunków tego rodzaju. Zastosowanie technik molekularnych pozwoliło na potwierdzenie przynależności gatunkowej wybranych izolatów *Oculimacula*.

W warunkach laboratoryjnych przeprowadzono doświadczenie dotyczące podatności wybranych odmian pszenicy ozimej na porażenie przez *O. acuformis* i *O. yallundae*. Jednak w zamieszczonych informacjach dotyczących tego zagadnienia pojawiła się pewna rozbieżność. Na stronie 26., w ostatnim akapicie podano, iż badaniami objęto 37 odmian, natomiast na str. 28., w tabeli 6. wymieniono tylko 36 odmian pszenicy. Ponadto skład odmian podanych w tej tabeli nie zgadza się ze składem odmian podanych w tabeli wynikowej (tab. 21) zamieszczonej na str. 68.

Podjęcie powyższych badań świadczy o rzetelnym rozpoznaniu i dobrym opanowaniu przez Doktorantkę nowych technik badawczych, jak i tych już sprawdzonych. Wskazuje wyraźnie, że posiada duże umiejętności praktyczne i szerokie rozeznanie w literaturze światowej, dotyczącej metod badawczych. Dla odpowiedniej interpretacji uzyskanych wyników i wnioskowania konieczne było przeprowadzenie szeregu analiz statystycznych,

co wymagało od niej wiedzy i umiejętności. Informacje dotyczące tych analiz zamieszczono w rozdziale 5. Obliczenia statystyczne.

Rozdział 6., dotyczący charakterystyki danych meteorologicznych został rozbudowany i obejmuje 4 strony. Zawarto w nim dwie ryciny i jedną tabelę.

Prawidłowe zaplanowanie i staranne wykonanie badań, umożliwiło uzyskanie wielu interesujących, a zarazem cennych danych. Opis wyników Autorka przedstawiła w 2 podrozdziałach i 5 mniejszych jednostkach redakcyjnych. Dane wynikowe uzyskane z przeprowadzonych obserwacji i analiz zamieściła w 14 tabelach, 6 rycinach oraz zilustrowała na 7 fotografiach, doskonale oddających zróżnicowanie morfologiczne badanych izolatów, stanowiących cenne uzupełnienie i udokumentowanie wykonanych obserwacji i analiz. Taki układ umożliwił dokładne i zrozumiałe przedstawienie danych wynikowych.

Doktorantka stwierdziła zróżnicowane nasilenie łamliwości źdźbła zbóż i traw w zależności od lokalizacji doświadczenia i lat badań. W obu miejscowościach nasilenie występowania choroby było wyższe w roku 2014, co tłumaczy korzystniejszymi warunkami dla jej rozwoju. Najlepszą skuteczność fungicydów w ochronie przed powyższą chorobą, ocenianą na podstawie obserwacji polowych i testu ELISA, uzyskano dla preparatów zawierających protiokonazol ze spiroksaminą, boskalid z epoksykonazolem, cyprodynil i metrafenon. Natomiast najłabszą skuteczność odnotowano dla fungicydów zawierających prochloraz i karbendazym. Tylko zastosowanie oprysku fungicydami zawierającymi karbendazym, prochloraz, lub tebukonazol nie wpłynęło istotnie na wzrost uzyskanego plonu ziarna.

Pewne wątpliwości budzi interpretacja wyników zawartych w tabeli 10. Na stronie 29., początek drugiego akapitu podano, że w Tetyniu w roku 2013 najwyższy procent porażonych przez *Oculimacula* spp. źdźbeł pszenicy odnotowano na poletkach kontrolnych (59%) oraz w przypadku ochrony roślin karbendazymem (51%), jednak statystycznie wartości te reprezentowały dwie różne grupy jednorodne. Dlatego powinno być, iż najniższy procent porażonych źdźbeł odnotowano tylko na poletkach kontrolnych. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku tabeli 11. Na str. 40. na początku akapitu powinno być, iż w Cisach w roku 2013 największą wartość indeksu porażenia odnotowano na poletkach niechronionych (36%), bez dodatkowego podawania obiektów z karbendazymem (33%) i prochlorazem (33%). Ponadto na str. 49., na początku pierwszego akapitu podano, iż w Tetyniu w 2013 roku zawartość jednostek antygeny grzyba w badanym materiale roślinnym wahała się od 9 do 128, a według tabeli 14. (str. 51) powinno być od 5 do 127.

Wartość ocenianej pracy podnosi wykorzystanie wielowymiarowej analizy statystycznej zastosowanej do analizy uzyskanych danych, w odniesieniu do wyników doświadczeń polowych, co pozwoliło na równoczesne porównanie kilku zmiennych, w tym indeksu porażenia, procentu roślin porażonych, wyników testu ELISA oraz plonu ziarna. Na zamieszczonych w pracy biplotach, układ prostych oraz punktów jest bardzo podobny, co może świadczyć o dużej powtarzalności wyników, a tym samym wiarygodności

przeprowadzonych badań. Zależności pomiędzy zmiennymi w dużym stopniu odpowiadały wynikom tradycyjnej korelacji.

W badaniach laboratoryjnych wykazano, iż substancja czynna fungicydów oraz jej stężenie, dla obu badanych gatunków *Oculimacula* miała istotny wpływ na zahamowanie wzrostu liniowego ich grzybni. Gatunek *O. aciformis* był bardziej wrażliwy na fungicydy, niezależnie od stężenia substancji czynnej, niż *O. yallundae*. Ogólnie wzrost liniowy grzybni *O. aciformis* najsilniej hamował fungicyd zawierający cyprodynil a grzybni *O. yallundae* – fungicydy zawierające metrafenon z epoksykonazolem i cyprodynil.

W przeprowadzonych badaniach Doktorantka stwierdzała istotne różnicowanie w podatności odmian na porażenie przez *Oculimacula*. Najmniej podatną na porażenie przez *O. aciformis* była odmiana Famulus, natomiast na *O. yallundae* - odmiana Praktik. Moim zdaniem, zarówno w tabeli 21. (str. 68), jak i opisie wyników (str. 67), a także w Dyskusji (str. 79), zamiast nazwy odmiany 'Holandia' powinno być 'Hondia'.

Na podkreślenie zasługuje szerokie i wnikliwie opracowanie rozdziału Dyskusja, liczącego 12 strony, w którym Autorka wyniki własne umiejętnie konfrontuje z rezultatami badań innych autorów, zawartych w przytoczonych pozycjach piśmiennictwa. Z rozdziału tego wynika, iż Doktorantka posiada szerokie rozeznanie w literaturze naukowej a jednocześnie umiejętność krytycznego podejścia, zarówno do uzyskanych rezultatów własnych, jak i perspektyw szerszego wykorzystania wykonanych badań.

Osiągnięcia wynikające z przeprowadzonych oryginalnych badań podsumowane zostały w dziewięciu punktach, które wypływały bezpośrednio z dyskusji i są trafnie osadzone w wynikach badań. Wszystkie punkty zamieszczone w tym rozdziale są w pełni uzasadnione merytorycznie, ukazują istotę prowadzonych dociekań i oddają ich końcowe rezultaty. Podsumowanie to na ogół sformułowane jest poprawnie. Jednak w punkcie 7. wymagana jest korekta ponieważ wzrost liniowy grzybni *O. yallundae* najsilniej hamowały fungicydy zawierające metrafenon+epoksykonazol oraz cyprodynil, a nie jak podano „metrafenon+epoksykonazol, boskalid+epoksykonazol, przez cyprodynil”. Ponadto w przypadku punktu 9. odnosi się wrażenie, iż jest on niedokończony. Brakuje w nim wyraźnego wskazania, które spośród analizowanych odmian są warte polecenia rolnikom, a których należy unikać w warunkach dużego zagrożenia wystąpienia łamliwości źdźbła zbóż i traw.

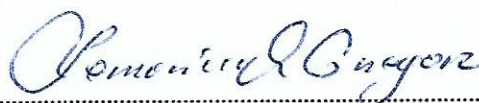
Cytowana przez Doktorantkę literatura stanowi 129 pozycji, w tym 37 napisanych w języku polskim, 88 w języku angielskim, 3 – niemieckim i 1 – francuskim, związanych tematycznie z rozprawą. W pracy wykorzystano również 5 opracowań zamieszczonych na stronach internetowych. Zazwyczaj dobór piśmiennictwa jest właściwy, zawierający dobrze wyselekcjonowane pozycje, odzwierciedlające aktualny stan wiedzy dotyczący problematyki podjętej w pracy i jest poprawnie cytowany w tekście. Ponadto czasopisma, jako nazwy własne, powinny być podawane z dużej litery, co w zamieszczonym wykazie literatury („Literatura”) nie zawsze miało miejsce.

Pewnym przeoczeniem jest zamieszczenie w wykazie piśmiennictwa publikacji, które nie zostały zacytowane w tekście (Anonim 2005, Jaczewska-Kalicka 1998, Korbas i Remlein 1996). W wykazie tym nie zamieszczono natomiast publikacji cytowanych w tekście takich jak: Fron 1912 (str. 6); Wallwork i Spooner 1988 (str. 6); Leroux i in. 1988 (str. 73). Ponadto w spisie nie zamieszczono pozycji Nicholson i in. 2000 (str. 72), jest jedynie Nicholson i Turner 2000. Nie zamieszczono również pozycji Kaniuczak i in. 2016 (str. 73) a jest Kaniuczak i Siekaniec 2016. Na str. 8 podano Daniels i in. 1993, a w wykazie jest tylko „Daniels 1993”. W tekście na str. 15, 28, 79 podano Beschreibende Sortenliste 2014, jednak nie ma takiej pozycji w wykazie, jest jedynie strona internetowa <http://www.bundessortenamt.de>. W pracy zdarzają się również różne zapisy autorów np.: str. 5 jest „Holins” a powinno być „Hollins”; str. 6 jest „Roberts” a powinno być „Robbertse”; str. 11 jest „Bloium” a powinno być „Blouin”; str. 16, 18, 19 jest „Puntener” a powinno być „Püntener”; str. 78 jest „Cavalier” a powinno być „Cavelier”; str. 79 jest „Palovica” a powinno być „Palicova”; str. 91 jest „Schulz” a powinno być „Schultz”

Powyżej wymienione błędy, często edytorskie, nie umniejszają wartości ocenianej pracy. Wskazanie kilku, niekiedy dyskusyjnych uwag lub sugestii, mogących być uwzględnionych przy redagowaniu pracy do opublikowania, nie kwestionuje niewątpliwych wartości jakie wnosi rozprawa do nauki. Należy wyraźnie stwierdzić, że rozprawa doktorska ma charakter pełnego opracowania, zawiera wiele cennych i nowych dla nauki wyników, mających dużą wartość poznawczą a także praktyczną. Jest ona spójna, dobrze zredagowana, niebudząca większych zastrzeżeń pod względem stylistycznym i językowym.

Opinia końcowa

Podsumowując stwierdzam, że pod względem formalnym, metodycznym i merytorycznym przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Darii Nowak spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r., nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora. W związku z powyższym przedkładam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Darii Nowak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk, prof. uczelni