



Ocena

rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Kiniec

pt. „Odporność grzyba *Cercospora beticola* na substancje czynne fungicydów”

wykonanej w Instytucie Ochrony Roślin-PIB w Poznaniu

pod kierunkiem dr hab. Jacka Piszczka, prof. IOR-PIB
oraz promotora pomocniczego dr Katarzyny Pieczul

Podstawą formalną do wykonania recenzji jest uchwała Rady Naukowej Instytutu Ochrony Roślin – PIB oraz pismo Sekretarza Rady Naukowej nr. RN/610/20/21 z dnia 8 listopada 2021 r.

Ocena formalna rozprawy

Praca doktorska liczy ogółem 159 stron i zawiera 40 tabel i 27 rycin, umiejscowionych odpowiednio w tekście. Doktorantka wyróżniła 10 rozdziałów ułożonych w prawidłowej kolejności, zachowując właściwe proporcje między rozdziałami. Dwa ostatnie rozdziały to streszczenia w języku polskim i angielskim. W większości rozdziałów znajdują się liczne podrozdziały, co znacznie ułatwia czytanie i zrozumienie tekstu. Piśmiennictwo jest bogate, obejmuje 241 pozycji, większa ich część jest obcojęzyczna. Odsyłacze bibliograficzne znajdują się w tekście we właściwych miejscach. Stwierdzam, że układ i struktura pracy są zgodne z ogólnie przyjętymi zasadami pisania prac naukowych. Strona formalna pracy nie budzi zastrzeżeń.

Ocena merytoryczna rozprawy

W pracy Doktorantka zajmuje się badaniem odporności grzyba *Cercospora beticola* powodującego chwościka buraka na substancje czynne fungicydów. Uważam tę tematykę za aktualną, ponieważ dotyczy najgroźniejszego patogenu tej rośliny. Silne porażenie liści przez



C. beticola powoduje wydłużenie głowy korzeniowej buraka, co utrudnia zbiór, znacznie zmniejsza masę korzeni i ilość cukru oraz zwiększa zawartość w nich niepożądanych tzw. melasotworów utrudniających krystalizację cukru. Chwościk buraka staje się w ostatnich latach coraz większym problemem z uwagi na szybkie uodpornianie się *C. beticola* na stosowane w tej uprawie fungicydy. To wynik braku rotacji preparatów lub stosowania ich, kiedy nie zachodziła taka potrzeba. Dlatego należy monitorować, kontrolować i zwalczać tego patogena skutecznymi substancjami, z zachowaniem rotacji środków, jeżeli zabieg trzeba powtórzyć. Jest to zadanie trudne, ponieważ Komisja Europejska wycofuje z użytkowania kolejne substancje czynne i wymusza na krajach członkowskich ograniczenie stosowania pestycydów o 50% do 2030 r. Wymienione trudności wymuszają szukanie alternatywnych metod ochrony roślin. Doktorantka w swojej pracy podjęła trud monitorowania odporności *C. beticola* na fungicydy, przetestowania dwuskładnikowych fungicydów pod kątem ich skuteczności w zwalczaniu tego patogenu, poznania zmienności genetycznej uzyskanych izolatów i powiązania ich z mutacjami w genie *cyp51* oraz sprawdzenia możliwości ograniczenia zużycia fungicydów w ochronie buraka przed chwościkiem dzięki połączeniu aplikacji fungicydów triazolowych z induktorem odporności roślin opartym na BTHWA. Praca ma więc dużą wartość poznawczą, jak i aplikacyjną. Szkoda, że tytuł rozprawy jest ogólny i nie podkreśla w większym stopniu jej walorów. Myślę jednak, że Autorka publikując wyniki pracy w czasopismach naukowych to skoryguje i dostosuje do omawianych w nich treści.

We wstępie Doktorantka wprowadza krótko w omawianą tematykę badań. Opisuje problemy w uprawie buraka związane z występowaniem chwościka oraz zwraca uwagę na brak wystarczających rozwiązań. W drugim rozdziale podane zostały cele pracy. Są one jasno sprecyzowane. Warto się jednak zastanowić, czy nie lepiej byłoby określić jeden cel główny, który mówi, jaki problem chcemy rozwiązać i podać zakres pracy wykorzystując do tego wymienione cele.

Rozdziałem bardzo dobrze napisanym jest przegląd piśmiennictwa, który liczy 30 stron. Świadczy to o dużej wiedzy Doktorantki i dobrej znajomości opisywanych zagadnień.



Przegląd jest napisany ciekawie, ładną polszczyzną. Składa się z 6 podrozdziałów, w których wyróżniono dodatkowe podpunkty. W pierwszym podrozdziale krótko przedstawione są inne choroby buraka i ich szkodliwość. W kolejnym podana została charakterystyka *C. beticola* i epidemiologia chwościka oraz metody ograniczania występowania tej choroby. Ta część tekstu została wzbogacona licznymi fotografiami, co podnosi jego wartość naukową. Doktorantka powinna jednak wymienić siebie jako autora zdjęć. Wkradła się też mała nieścisłość. Podrozdział ten powinien mieć tytuł „Etiologia *C. beticola* i epidemiologia chwościka buraka” zamiast „Etiologia i epidemiologia chwościka buraka, ponieważ etiologia dotyczy patogenu a nie choroby. W trzecim podrozdziale podany został rys historyczny stosowania fungicydów oraz mechanizmy działania substancji czynnych stosowanych w Polsce w zwalczaniu *C. beticola*. W kolejnym Doktorantka przybliżyła odporność grzybów na fungicydy i omawia trzy stopnie ryzyka wystąpienia populacji odpornych. Dużo uwagi poświęca też mechanizmom odporności grzybów na triazole, strobiluriny, benzimidazole i morfoliny. W ostatniej części Doktorantka omówiła wykorzystanie indukcji odporności w ochronie roślin. Uważam, że trzy ostatnie podrozdziały, jako szczególnie przydatne dla praktyki rolniczej i dobrze opracowane, powinny zostać udostępnione w formie publikacji przeglądowej.

Opracowanie prawidłowej metodyki decyduje o rzetelności uzyskanych wyników badań. Doktorantka dobrze zaprojektowała doświadczenia laboratoryjne (szalkowe i molekularne) oraz założyła doświadczenie polowe z ochroną fungicydową i indukowaną. Jasno przedstawiła założenia metodyczne pracy i uzupełniła je analizą statystyczną. Pojawiło się jednak kilka błędów. W podrozdziałach materiał i metody powielono te same podpunkty (testy odporności, testy molekularne, testy polowe). Powinny zostać połączone lub ich treść w części materiał zmieniona np. na izolaty grzybów użyte w doświadczeniu szalkowym, podłoża hodowlane, itd. W tabeli 4.6 warto wpisać raz słowo wariant i go nie powtarzać kilka razy, a termin zabiegu wpisać nad numerami zabiegów. W tabeli 4.7 przy opisie objawów (5-8) warto je zróżnicować np. liczne lub bardzo liczne lub słabo, średnio i silnie porażone. W części poświęconej badaniom molekularnym nie podano ile izolatów przetestowano, informacje na ten temat pojawiają się dopiero w wynikach badań. W podrozdziale warunki meteorologiczne



lepiej byłoby przedstawić przebieg pogody z dwóch lata badań na jednym wykresie, co ułatwiłoby ich porównanie i wyciąganie wniosków.

Obszernie i szczegółowo został opisany rozdział wyniki. Związane to było z szerokim zakresem przeprowadzonych doświadczeń. W latach 2013-2016 Doktorantka uzyskała z liści zebranych z wielu regionów działania Krajowej Spółki Cukrowej aż 771 izolatów *C. beticola*, które wykorzystwała w testach odporności tego grzyba na 4 fungicydy z grupy triazoli. Z tej grupy wyłoniła zestaw izolatów z odpornościami, które dalej poddała badaniom molekularnym. Z kolei w testach polowych (2019-2020) przeanalizowała nie tylko zdrowotności liści buraka po zastosowaniu ochrony fungicydowej i indukowanej, ale co ważne również jego plonowanie i parametry technologiczne. Wykazała się przy tych badaniach dużą pracowitością i sumiennością. Pomocne przy obrazowaniu i porównaniu tak dużego materiału były zamieszczone w tekście tabele i wykresy. Były one przedstawione w sposób czytelny i zrozumiały. Powinno się jednak w tabelach znormalizować zapis pierwszej kolumny dotyczącej wariantów doświadczenia, tak jak to zaproponowano w rozdziale materiał i metod badań. Dobrze opracowana statystyka pozwala Doktorantce na prawidłową analizę i interpretację otrzymanych wyników badań.

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano wiele ciekawych wyników badań. Na przykład udowodniono, że w rodzimej populacji *C. beticola* systematycznie wzrasta odporność na triazole. Przeprowadzone testy odporności na pożywkach pokazały, że ok. 21% wszystkich izolatów *C. beticola* wykazywała odporność krzyżową na epoksykonazol i tebukonazol. Zidentyfikowanych zostało sześć wariantów genu *cyp51*, wskazujących na jego zmienność. Wykryto cztery mutacje aminokwasowe (R172G, V467F, Y464S oraz I387M) i jedną cichą mutację (Glu170). Mutacje R172G oraz V467F zostały opisane u izolatów *C. beticola* po raz pierwszy. Doktorantka stwierdziła, że zidentyfikowane mutacje aminokwasowe mogą odpowiadać za spadek wrażliwości *C. beticola* na triazole, warunkując słabsze wiązanie substancji czynnej fungicydu lub wzrost ekspresji genu *cyp51*. Wyniki doświadczeń ze stosowaniem indukowanej odporności są obiecujące. Należy jednak pamiętać, że w przypadku dwuletnich badań możemy mówić tylko o zarysowaniu się pewnej tendencji, bo wymaga to jeszcze przeprowadzenia kolejnych badań.



Rozdział Dyskusja jest obszerny (28 stron). Doktorantka potrafiła umiejętnie przedstawić w nim wyniki swoich badań na tle badań innych autorów. Dyskusja jest rzeczowa, przemyślana i porusza wszystkie najważniejsze kwestie, które pojawiły się w trakcie prowadzenia badań. Doktorantka wykorzystała w niej liczne, dobrze dobrane źródła literaturowe, dlatego dyskusja jest ciekawa i wartościowa pod względem naukowym. Uważam, że jest to dobrze napisany fragment pracy. Zdarzały się jednak skróty myślowe, wymagające korekty np. „Natomiast Larson (2004) nie stwierdził jednoznacznie korzystnego wpływu zabiegów ochronnych na plon ekstrahowanego cukru” (str. 121). Zabiegi ochronne chronią rośliny przed patogenem, ale nie są czynnikiem plonotwórczym.

Oceniana rozprawa kończy się 10 wnioskami. Powinny być one jednak ponumerowane, a nie wymienione. Wnioski są logiczne, spójne z przeprowadzoną analizą wyników i odpowiadają na postawione przez Doktorantkę cele badań. Niektóre z wniosków wymagają przeredagowania, ponieważ są bardziej stwierdzeniami (np. 1, 2, 4). Szkoda, że w pracy nie ma podanych hipotez badawczych, wiele czasopism ich wymaga. Ułatwiają one zredagowanie prawidłowych wniosków.

Mimo różnych uchybień natury edycyjnej, które mogą zostać łatwo przez Doktorantkę poprawione, pracę oceniam jako bardzo wartościową. Wnosi ona wiele nowych treści w rozwój nauk rolniczych, dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Jej wyniki związane z ochroną fungicydową i alternatywnymi metodami ochrony roślin powinny zostać wykorzystane przez producentów buraka cukrowego, jak i odpowiednie służby Krajowej Spółki Cukrowej SA.



Podsumowanie i wniosek końcowy

Praca doktorska Pani mgr inż. Agnieszki Kiniec zawiera bogaty i interesujący materiał doświadczalny, którego wartość naukową znacznie podnoszą wyniki badań molekularnych. Dużym atutem tej pracy jest jej kompleksowe podejście do zagadnień związanych ze zmiennością populacji *C. beticola*, jego uodpornianiem na fungicydy, skutecznością zwalczania fungicydami triazolowymi, stosowania induktora odporności BTHWA oraz wpływu tych zabiegów na parametry ilościowe i jakościowe uzyskanego plonu. Dlatego uważam, że praca ma duży potencjał naukowy, jak i aplikacyjny. Ponadto prawidłowa analiza tak obszernego materiału badawczego świadczy o dojrzałości i dobrym przygotowaniu Doktorantki do pracy naukowej.

Stwierdzam, że recenzowana praca doktorska mgr inż. Agnieszki Kiniec dotyczy zagadnień z zakresu nauk rolniczych, dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo oraz spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zapisane w Ustawie o stopniach i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 r., tekst ujednolicony z dnia 29 września 2014 r. oraz w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r., Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018, poz. 1668). Wnioskuje o dopuszczenie Pani mgr inż. Agnieszki Kiniec do dalszych etapów przewodu doktorskiego przed Radą Naukową Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu oraz wyróżnienie pracy nagrodą.

E. Płaskowska

.....
prof. dr hab. Elżbieta Płaskowska