

Opole, dnia 22.11.2021

Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Kiniec wykonana przez

Dr hab. Ewę Moliszewską, prof. UO

Tytuł dysertacji doktorskiej:

Odporność grzyba *Cercospora beticola* na substancje czynne fungicydów

Promotor: **dr hab. Jacek Piszczyk, prof. IOR-PIB**

Promotor pomocniczy: **dr Katarzyna Pieczul**

Dziedzina: **Nauki rolnicze**

Dyscyplina: **Rolnictwo i ogrodnictwo**

Podstawa formalna recenzji

Podstawą formalną niniejszej recenzji jest powołanie na recenzenta do w/w rozprawy doktorskiej przez Radę Naukową Instytutu Ochrony Roślin – PIB uchwałą z dnia 17.06.2021, przekazane mi pismem RN/610/13/21 z dnia 22 czerwca 2021 roku. Pismo podpisała Sekretarz Rady Naukowej dr Katarzyna Nijak. Manuskrypt do recenzji otrzymałam w dniu 12 listopada 2021 roku i przesłano go osobną przesyłką.

Charakterystyka oraz ocena merytoryczna i formalna rozprawy

Burak cukrowy jest niezwykle ważną rośliną uprawną w rolnictwie Polski oraz innych krajów europejskich. Jego ochrona ma kluczowe znaczenie dla plonowania, które jest wymierne nie tylko z punktu widzenia masy plonu, ale także jego jakości wyrażonej uzyskiem cukru białego oraz zawartością tzw. melasotworów. Na te parametry wpływają zarówno aspekty uprawowe jak i sposób ochrony plantacji. Burak cukrowy wymaga kompleksowej ochrony przed chorobami pośród których kluczowe znaczenie dla ilości i jakości plonu ma chwościk buraka powodowany przez *Cercospora beticola*. W obliczu wąskiego i stale zawężanego spektrum substancji czynnych w środkach ochrony roślin przed chorobami grzybowymi oraz wobec pojawiających się odporności na nie w populacjach patogenów należy podejmować kroki w celu zoptymalizowania zabiegów ochronnych umożliwiającego przeciwdziałanie występowaniu odporności u patogenów z jednoczesnym zachowaniem skuteczności takich zabiegów. Pośród tego typu działań

optymalizacyjnych należy uwzględniać wszelkie możliwości wynikające z zasad agrotechniki oraz biologii, jak np. stosowanie odmian buraka z odpornościami, bądź wykorzystanie zjawisk indukowania naturalnych zjawisk odporności. Zatem temat badań podjętych przez doktorantkę ma wysokie walory poznawcze oraz użytkowe dla nauki i gospodarki.

Autorka podjęła się badań dotyczących odporności na wybrane jedno- jak i dwuskładnikowe fungicydy zawierające triazolowe substancje aktywne (epoksykonazol, tebukonazol). Badania objęły szeroki monitoring występowania odporności oraz próbę powiązania tych odporności z mutacjami w genie *cyp51* badanych izolatów *C. beticola*. Monitoring objął bardzo obszerną grupę izolatów (bo aż 771 szt.) pochodzących z dużej części obszaru Polski (rejony działalności Krajowej Spółki Cukrowej). Z tej grupy wyłoniono zestaw izolatów z odpornościami, które to zostały poddane badaniom molekularnym. Badania te pozwoliły na wyodrębnienie sześciu typów mutacji badanego genu *cyp51*, z tego dwie mutacje po raz pierwszy. Nie udało się tych mutacji powiązać bezpośrednio z odpornościami badanych grzybów.

Doktorantka przeprowadziła także dwuletnie badania polowe, ich zakres nie był jednakowy w obu latach badań i wynikał w drugim roku częściowo z efektów uzyskanych w roku poprzednim. Oprócz analizy zdrowotności liści buraka, przeanalizowano także jego plonowanie, zarówno pod kątem masy plonu jak i jego jakości (zawartość sacharozy oraz melasotworów). Rezultaty tych badań nie są ewidentnie jednoznaczne, choć pozwalają na wysnucie wniosku co do zasadności proponowanego postępowania, tj. wykorzystania BTHWA jako induktora odporności. Jednakże w mojej ocenie, tego typu badania należy kontynuować w odrębnym i szerzej zakrojonym cyklu doświadczeń.

Przesłana mi do oceny rozprawa doktorska mgr Agnieszki Kiniec liczy 159 stron druku (w tym też spis treści). Wymieniony na wstępie tytuł rozprawy dość luźno odpowiada jej treści.

Praca została przygotowana wg. tradycyjnego układu przewidzianego dla tego typu dysertacji, składa się z dziesięciu rozdziałów głównych, a najważniejsze jej rozdziały zostały rozbudowane i podzielone na podrozdziały. Dysertacja cechuje się z właściwie dobraną kolejnością rozdziałów o charakterze merytorycznym (5 rozdziałów) oraz dalszych 5-ciu uzupełniających o charakterze pomocniczym. Pracę rozpoczyna Wstęp, następnie zawarto jasno sprecyzowane (choć rozbudowane) cele badań, a w dalszej kolejności obszernie wprowadzenie do zagadnienia tematyki badawczej podjętej przez doktorantkę. Rozdział Materiały i Metody podzielono na dwie części - Materiały i osobno omówione Metody, w których także odrębnie omówiono badania laboratoryjne i

polowe. Wyniki otrzymane przez doktorantkę zostały przedstawione w licznych tabelach oraz wykresach wraz z komentarzami. Autorka zastosowała metody analizy statystycznej do opracowania i wnioskowania z wyników badań. Podsumowanie swoich obserwacji oraz badań innych autorów doktorantka zawarła w obszernej dyskusji, do przygotowania której przestudiowała i wykorzystała 241 pozycji literatury polskiej, zagranicznej oraz źródeł internetowych, co stanowi obszerny materiał i jednocześnie należy go ocenić jako dobrze dobrany dla niniejszej pracy. Wnioski z badań zawarto w zwięzłych punktach. Całość pracy wieńczy obszerny spis źródeł literaturowych, a także streszczenia w j. polskim oraz j. angielskim. Cele, które postawiła sobie doktorantka zostały zrealizowane. Praca ta, zatem spełnia wymogi stawiane dysertacjom doktorskim.

Uwagi i pytania do autorki

Po przestudiowaniu przedłożonej mi do oceny monografii nasunęły mi się następujące spostrzeżenia:

- tytuł pracy wydaje się być zbyt ogólnikowym i nie odzwierciedlać w pełni zawartości opracowania;
- praca zawiera błędy pisarskie (tzw. literówki), powtórzenia - np. str. 6, wers 10 od góry – dwukrotnie „są”, str. 69 – powtórzone zdanie; skróty myślowe, uproszczenia, np.: „grzyby *Trichoderma*” – należałoby użyć sformułowania „grzyby rodzaju *Trichoderma*”; wniosek piąty i szósty zawierają skróty myślowe (brak podmiotu/podmiot domyślny), itp.;
- wykresy 4.3 i 4.4 zawierające dane pogodowe po połączeniu byłyby łatwiejsze do przyswojenia, analizy i porównania dla czytelnika;
- materiały i metody badań są nie do końca w sposób jasny przedstawione, np. informacja o liczbie izolatów użytych w badaniach molekularnych pojawia się znacznie później, bo w rozdziale 5.2.3;
- wykresy z zawartymi etykietami wartości słupków byłyby łatwiejsze do analizy dla czytelnika;
- na str. 67 wskazano, że użyto dziesięć izolatów do sekwencjonowania genu *cyp51*, ale tabela 5.2 zawiera dziewięć izolatów, co stało się z dziesiątym, czy nie wykryto w nim mutacji?;
- niejasne jest jakie było kryterium wyboru izolatów do badań molekularnych?;
- tabela 5.2 byłaby bardziej wartościowa, gdyby podano w niej dodatkowo pochodzenie regionalne izolatów z mutacją oraz współczynniki odporności EC₅₀;

- czy niewielkie liczby izolatów użyte do wyznaczenia wartości EC_{50} w latach 2013-15 wynikały z niskiej liczby rejestrowanych odporności? Czy tak duża dysproporcja pomiędzy poszczególnymi latami oceny jest wystarczająca do sformułowania wniosków co do zmian w czasie?;
- brak mi wykresu/ilustracji pokazującej jak rozkładały się odporności/wrażliwości na badane fungicydy w odniesieniu do rejonów kraju;
- w rozdziale, w którym analizowano odporności na fungicydy warto wymienić te izolaty np. w tabeli; podano procenty izolatów bez wskazania bardziej szczegółowych danych;
- sekwencje przedstawione na rycinach 5.14 i 5.15 stanowią poglądowe fragmenty i nie ilustrują wszystkich omawianych mutacji, należało to uwzględnić w tytułach tych rycin, doprecyzować tytuły;
- objaśnienia (pod tabelą) do tabel ilustrujących wyniki badań polowych są rutynowo powielone i nie odzwierciedlają zawartości tabeli, należałoby je dostosować;
- rozumiem, że badania polowe w drugim roku były zaplanowane z uwzględnieniem rezultatów roku poprzedniego, jak można porównać te wyniki zważywszy, że jednego roku użyto odmiany odpornej a drugiego tejże odpornej i standardowej, czyli bez odporności na CLS/chwościka?
- rozumiem, że w badaniach polowych bazowano na naturalnym zakażeniu chwościkiem?
- czy z własnych poletek doświadczalnych izolowano *C. beticola* w celu monitorowania ewentualnych odporności na fungicydy (rejon poletek doświadczalnych też podlegają wpływom cukrowni, czyli leżą w jej/ich rejonie)?
- warto było się pokusić o podanie wartości liczbowych we wnioskach, co zapobiegłoby nadmiernemu uogólnianiu, zwłaszcza, że niejednokrotnie raczej można było mówić o tendencjach aniżeli pewnikach, zważywszy, iż w zasadzie liczba lat doświadczeń polowych była niższa niż typowo oczekiwana, a sytuację ratują liczne stanowiska doświadczalne.

Podsumowując należy zauważyć, że doktorantka wykonała bardzo dużą pracę przeprowadzając różnego rodzaju eksperymenty, wymagające od niej szeregu umiejętności, począwszy od planowania, umiejętności organizacyjnych, działania w polu po wysublimowane techniki laboratoryjne, aż po zebranie wyników oraz ich analizowanie i przedstawienie. Wobec powyższego należy uznać, że doktorantka opanowała szeroki wachlarz umiejętności badawczych oraz analitycznych i rokuje jako przyszły pracownik nauki, a uwagi zawarte w niniejszej recenzji pozwolą jej na przygotowanie wartościowego materiału publikacyjnego.

Wnioski końcowe

Praca doktorska mgr Agnieszki Kiniec stanowi wartościowy materiał zarówno z punktu widzenia praktyki rolniczej jak i nauk rolniczych oraz mykologii. Z całą pewnością może być ona uwzględniona w planowaniu ochrony buraka cukrowego i oceniam ją bardzo wysoko pomimo wskazanych uchybień. Tego typu badania mają szczególne znaczenie dla praktyki rolniczej, pozwalają na racjonalne podejście do ochrony w warunkach produkcyjnych, co jest ważne w przypadku tak trudnej do opanowania i istotnej dla produktywności buraka choroby jaką jest chwościk buraka. Ponadto monitoring odporności patogenów stanowi z jednej strony pracochłonne zadanie, trudno publikowalne, ale o nieocenionym znaczeniu dla praktyki, niewielu uczonych zajmuje się tą kwestą.

Stwierdzam zatem, iż rozprawa doktorska mgr Agnieszki Kiniec dotyczy zagadnień z zakresu nauk rolniczych i odpowiada dyscyplinie: rolnictwo i ogrodnictwo oraz spełnia wymogi Ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki [Dz.U. nr 65, poz. 595, teks jednolity opracowany na podstawie: tj. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789] i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Roślin – PIB w Poznaniu o dopuszczenie mgr Agnieszki Kiniec do jej publicznej obrony.

Wobec powyższego w uznaniu za istotny wkład dla praktyki rolniczej niniejszych badań wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Ochrony Roślin – PIB w Poznaniu o przyznanie nagrody mgr Agnieszce Kiniec.

Dr hab. Ewa Moliszewska, prof. UO



