

Bydgoszcz, 26.11.2016 r.

Dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk, prof. UTP
Zakład Fitopatologii Molekularnej
Katedra Entomologii i Fitopatologii Molekularnej
Wydział Rolnictwa i Biotechnologii
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr Dagny Maculewicz pt.: „Charakterystyka
dwujądrowych przedstawicieli rodzaju *Rhizoctonia*” wykonanej w Samodzielnej
Katedrze Biotechnologii i Biologii Molekularnej Wydziału
Przyrodniczo-Technicznego Uniwersytetu Opolskiego**

Problem badawczy podjęty w rozprawie doktorskiej Pani mgr Dagny Maculewicz dotyczy glebowych grzybów rodzaju *Rhizoctonia*, stanowiące dużą, bardzo ważną, różnorodną grupę organizmów saprotroficznych, patogenicznych i mikoryzujących. Izolaty patogeniczne najczęściej powodują uszkodzenia podziemnych części roślin, rzadziej nadziemnych, prowadząc niejednokrotnie do zniszczenia całej rośliny. Różnorodność preferencji pokarmowych izolatów sprawia, że powodują one znaczne straty ilościowe i jakościowe wielu gatunków, zarówno roślin dwuliściennych jak i jednoliściennych. Atakują szereg gatunków roślin rolniczych, ozdobnych, warzywa, drzewa, krzewy, a także chwasty. Są rozpowszechnione na całym świecie. Szczególnie szeroko opisany jest gatunek *Rhizoctonia solani* (teleomorfa: *Thanatephorus cucumeris*), występujący na wielu gatunkach roślin.

W obrębie rodzaju *Rhizoctonia* występuje podział oparty na liczbie jąder w komórkach. Grzyby będące przedmiotem badań Doktorantki to dwujądrowe *Rhizoctonia* (stadium teleomorficzne *Ceratobasidium* spp.). Na podstawie reakcji anastomozy zachodzących między strzępkami izolatów podzielono je na 21 grup anastomozowych - od AG-A do AG-U.

Wśród *Rhizoctonia* spp. izolowanych w Polsce część stanowią izolaty dwujądrowe, uzyskiwane m. in. z buraka cukrowego, zbóż (*R. cerealis*) oraz szkółek leśnych. Mimo tego, że wykazują patogeniczność wobec wielu gatunków roślin, mało jest opracowań poświęconym tej grupie grzybów. Wobec tego Doktorantka dokonała słusznego wyboru podejmując się szczegółowej charakterystyki przedstawicieli populacji dwujądrowych *Rhizoctonia* spp. występujących w glebach Polski.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Dagny Maculewicz dotycząca opisu morfologicznego zgromadzonej kolekcji grzybów, badań molekularnych i biochemicznych, określenia patogeniczności, zdolności do syntezy tiaminy, wrażliwości na substancje humusowe i fungicydy, tempa wzrostu i zdolności do wzrostu na różnych typach podłoża jest znakomitą próbą scharakteryzowania dwujądrowych izolatów grzybów rodzaju *Rhizoctonia*. Rozprawa liczy łącznie 158 numerowanych stron, w tym obejmuje 21 tabel oraz 49 rycin, na które składa się 27 fotografii. Struktura rozprawy została opracowana w układzie klasycznym dla prac doktorskich, według ogólnie przyjętego schematu. Całość materiału opisowego podzielono na 11 głównych rozdziałów merytorycznych: 1. Wstęp i cel pracy, 2. Przegląd literatury, 3. Materiał, 4. Metody, 5. Wyniki, 6. Dyskusja, 7. Wnioski, 8. Streszczenie, 9. Summary, 10. Piśmiennictwo, 11. Aneks. Ponadto w ramach rozdziałów 2., 3., 4. i 5. wyodrębniono szereg podrozdziałów, a w ramach rozdziałów 2., 4. i 5. dodatkowo wyodrębniono mniejsze jednostki redakcyjne. Taki układ sprawia, iż praca jest czytelna.

Cytowana przez Doktorantkę literatura stanowi 149 pozycji, w tym 141 obcojęzycznych, związanych tematycznie z rozprawą. Dobór literatury jest właściwy, zawierający dobrze wyselekcjonowane pozycje, odzwierciedlające aktualny stan wiedzy dotyczącej problematyki podjętej w pracy.

Treść pracy odpowiada tematowi określone w prawidłowo zredagowanym tytule. W rozdziale „Wstęp i cel pracy”, Doktorantka w sposób jasny i zrozumiały wprowadza czytelnika w problematykę podjętych badań. Cel pracy dobrze sformułowany i w toku badań został zrealizowany.

W „Przeglądzie literatury” Autorka słusznie wyodrębniła 6 podrozdziałów, wykorzystując liczne pozycje literatury, starannie dobrane do studiowanego zagadnienia i właściwego tematu badawczego. W rozdziale tym przedstawiła rys historyczny dotyczący grzybów rodzaju *Rhizoctonia*, ich klasyfikację i morfologię. Należy zaznaczyć, iż wykonała to rzetelnie, zważywszy na fakt bardzo skomplikowanej i niejednoznacznej klasyfikacji. W dalszej kolejności Doktorantka scharakteryzowała dwujądrowe *Rhizoctonia* spp., uwzględniając przy tym ich podział na grupy anastomozowe. Ponadto przybliżyła grupę jednojądrowych przedstawicieli *Rhizoctonia*.

W oparciu o liczne pozycje literaturowe przedstawiła aktualny stan wiedzy dotyczący ekologii rodzaju *Rhizoctonia*, zwracając szczególną uwagę na patogeniczność dwujądrowych przedstawicieli tego rodzaju, możliwości wykorzystania dwujądrowych *Rhizoctonia* w ochronie roślin przed patogenami oraz ich symbiozę z korzeniami roślin. Zwraca tutaj szczególną uwagę na znaczenie poszerzenia wiedzy na temat dwujądrowych *Rhizoctonia* spp., mogących spełniać ważną rolę w naturalnych systemach ochrony roślin, jako alternatywną metodę do stosowanych fungicydów. Rozdział ten opracowany niezwykle starannie, oparty został na

odpowiednio dobranej literaturze obiegu międzynarodowego.

Zrealizowanie założonych celów wymagało wielu szczegółowych i specjalistycznych badań, których wykonanie Doktorantka podała w rozdziałach „Materiał” i „Metody”. Oceniana rozprawa doktorska obejmuje badania laboratoryjne. Materiał badawczy stanowiła kolekcja 51 izolatów, głównie dwujądrowych, które pozyskano w latach 1996-2011 z terenu południowej Polski, z drzew, należących do różnych gatunków, zarówno iglastych, jak i liściastych, a także z roślin bobowatych, buraka cukrowego i ziemniaka. Do badań włączyła także 29 izolatów testerowych dla dwujądrowych *Rhizoctonia* spp. Z uwagi na szeroko zakrojone badania i związaną z tym konieczność zastosowania wielorakich metod, Autorka wyodrębniła dwa rozdziały, a w nich 20 podrozdziałów. Dzięki takiemu podejściu materiał badawczy oraz sposób wykonania badań został przedstawiony przejrzysto. W pracy zastosowano prawidłowe metody badawcze, właściwie dobrane i zastosowane, nie budzące zastrzeżeń merytorycznych. Doktorantka dokładnie opisała sposoby przeprowadzania eksperymentów, podając wszystkie niezbędne metodyki. W swych badaniach zastosowała metody klasyczne, jak również nowoczesne metody związane z analizą sekwencji regionów ITS rybosomalnego DNA. Podjęcie takich badań świadczy o rzetelnym rozpoznaniu i dobrym opanowaniu przez Doktorantkę nowoczesnych technik badawczych. Dyskusyjne wydaje się jedynie zbyt rozbudowanie podrozdziału 4.14.1. poświęconego izolacji i charakterystyce kwasów humusowych. Niewątpliwie informacje w nim zawarte są bardzo ważne, jednak moim zdaniem zbyt szczegółowo opisane. Dla odpowiedniej interpretacji uzyskanych wyników i wniosku konieczne było przeprowadzenie analiz statystycznych, co wymagało od Doktorantki wiedzy i umiejętności praktycznych.

Prawidłowe zaplanowanie i staranne wykonanie badań, niejednokrotnie bardzo pracochłonnych, umożliwiło uzyskanie wielu interesujących a zarazem cennych wyników, mogących znaleźć zastosowanie także w praktyce. Wyniki przeprowadzonych obserwacji Doktorantka przedstawiła w 15 podrozdziałach. Zamieściła je w 11 tabelach i zilustrowała na 34 rycinach. Należy tutaj zaznaczyć, iż 18 numerowanych rycin stanowią zdjęcia wykonane przez Doktorantkę, doskonale oddające charakterystykę badanych izolatów, stanowiące bardzo cenne uzupełnienie i udokumentowanie wykonanych obserwacji. Taki układ umożliwił Doktorantce dokładne i zrozumiałe przedstawienie dużej ilości danych uzyskanych z przeprowadzonych obserwacji.

Porównanie sekwencji regionów ITS1-5,8S-ITS2 rDNA testowanych izolatów *Rhizoctonia* spp. z sekwencjami zdeponowanymi w bazie GenBank pozwoliło na potwierdzenie przynależności dwujądrowych izolatów z kolekcji do trzech grup anastomozowych, tj. AG-A, AG-E i AG-K. Stwierdzono, że pewna grupa izolatów, należących do AG-E, wykształcała komórki o liczbie zróżnicowanej od 2 do 4, a średnia

liczba jąder była bliska liczbie 3. Ta cecha może znacznie ułatwić wstępną identyfikację izolatów *Rhizoctonia* spp., a także może być przesłanką do wyodrębnienia dwóch podgrup: podgrupy izolatów dwujądrowych oraz podgrupy izolatów trzyjądrowych w obrębie AG-E.

Stwierdzono bliskie spokrewnienie izolatów z AG-A i AG-K, natomiast AG-E były znacznie mniej do nich podobne i były bliżej spokrewnione z np. AG-F i *R. solani*. Badane dwujądrowe *Rhizoctonia* spp. odznaczały się silną wirulencją względem siewek buraka cukrowego i zróżnicowaną wobec innych roślin. Ponadto wpływały negatywnie na wzrost roślin bez wywoływania objawów chorobowych. Nieliczne dwujądrowe *Rhizoctonia* spp. wykazywały pozytywny wpływ na rozwój roślin, co uwidoczniło się wykształcaniem dłuższego systemu korzeniowego. Badane izolaty wydzielają zewnątrzkomórkowo metabolity, które są zdolne do rozkładu składników tkanek roślinnych, powodując ich uszkodzenia i pozwalając na infekowanie nieuszkodzonych wcześniej roślin. Przy czym wytwarzały one mniej tych metabolitów niż izolaty *R. solani*. Wykazano, iż powyższe cechy nie miały związku z przynależnością do grupy anastomozowej. Ponadto badane dwujądrowe *Rhizoctonia* spp. cechowały się zróżnicowaną wrażliwością na obecność w glebie substancji humusowych, głównie w postaci kwasów fulwowych, oraz środków ochrony roślin, co może mieć wpływ na ich zdolność do rozrostu i przetrwania w środowisku glebowym.

Na szczególne podkreślenie zasługuje wnikliwie opracowanie rozdziału „Dyskusja”, w którym Autorka wyniki własne umiejętnie konfrontuje z rezultatami badań innych autorów zawartych w przytoczonych pozycjach piśmiennictwa. Z rozdziału tego wynika, że 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 dziewięcioma na ogół prawidłowo sformułowanymi wnioskami. Wskazane jest jednak unikanie uogólnień i warto zaznaczyć, iż wnioski te odnoszą się do wyników uzyskanych przez Doktorantkę.

Oceniając ogólnie należy stwierdzić, iż praca jest spójna, dobrze zredagowaną, napisana przejrzysto, niebudząca zastrzeżeń pod względem stylistycznym i językowym. Jest to doskonałe kompendium wiedzy na temat grzybów rodzaju *Rhizoctonia*, ze szczególnym uwzględnieniem dwujądrowych przedstawicieli tego rodzaju, na temat których nie ma zbyt dużo informacji.

Doktorantka nie ustrzegła się jednak drobnych błędów, które zauważono w pracy:

- Tłumacząc z literatury obcojęzycznej należy stosować prawidłowe nazwy chorób, o ile istnieją polskie odpowiedniki, np. należy stosować nazwę „ostra plamistość oczkowa” a nie „ostra plamistość oczkowa podstaw źdźbła zbóż”.

- Nie zawsze prawidłowo stosowano pojęcia patogeniczność i wirulencja. Należy zaznaczyć, iż patogeniczność oznacza zdolność danego czynnika do wywołania stanu chorobowego, a miarą patogeniczności jest wirulencja.
- Występują niezgodności w cytowanej literaturze. Nie wszystkie pozycje literatury znajdujące się w spisie piśmiennictwa zostały zacytowane w tekście, i odwrotnie – nie wszystkie cytowane pozycje znajdują się w spisie. Ponadto zdarzają się różne zapisy autorów np.: w niektórych miejscach jest „Staplers” a powinno być „Stalpers”.
- Na stronie 97 prawdopodobnie nastąpiła pomyłka dotycząca numeracji ryciny. Podano „ryc. 30” a moim zdaniem powinno być „ryc. 31”.

Sugestie dotyczące pracy:

- W przypadku tabel 7., 8., 15., 16. warto rozważyć wprowadzenie dodatkowych objaśnień,
- Tabele 10., 11. i 19. warto uzupełnić o jednostki miary i masy,
- Pisząc pierwszy raz w tekście (tabelach, wykresach) nazwę gatunkową grzybów lub roślin proszę podać pełną ich nazwę. Przy ponownym ich podaniu należy stosować skróty. Zasada ta nie zawsze była stosowana.
- Moim zdaniem warto rozważyć zastąpienie wyrażen „indeks porażenia” oraz „procent porażonych roślin” innymi wyrażeniami, np. „indeks chorobowy” i „procent roślin z objawami chorobowymi”. W pracy oceniano nasilenie objawów chorobowych i tak właściwie nie mamy pewności, iż rośliny, na których nie obserwowano objawów chorobowych nie były już porażone.

Powyżej wymienione drobne błędy, często edytorskie, nie umniejszają wartości ocenianej pracy. Wskazanie kilku, niekiedy dyskusyjnych uwag, mogących być uwzględnionych przy redagowaniu prac do opublikowania, nie kwestionuje niewątpliwych wartości jakie wnosi rozprawa do nauki. Pod względem formalnym, merytorycznym i metodycznym przedstawiona do oceny rozprawa doktorska nie budzi żadnych wątpliwości. W podsumowaniu należy wyraźnie stwierdzić, że rozprawa doktorska Pani mgr Dagny Maculewicz ma charakter pełnego opracowania, zwiera wiele cennych i nowych dla nauki wyników, mogących mieć dużą wartość poznawczą jak i aplikacyjną.

Ustosunkowując się ogólnie do recenzowanej pracy stwierdzam, że pod względem formalnym, metodycznym i merytorycznym przedstawiona do oceny rozprawa doktorska przedłożona przez mgr Dagnę Maculewicz całkowicie spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r., nr 65, poz. 595) oraz Rozporządzenia Ministra Edukacji Narodowej i Sportu z dnia

15 stycznia 2004 r. w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. z 2004 r., nr 15, poz. 128 z późn. zmianami). Wobec czego, w pełnym przekonaniu przedkładam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Przyrodniczo-Technicznego Uniwersytetu Opolskiego o dopuszczenie Pani mgr Dagny Maculewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę tematykę badawczą, jej znaczenie naukowe, niezwykle szeroki jej zakres, zastosowane techniki badawcze, wnikliwe opracowanie wyników oraz ich interpretację, wnioskuję do Rady Wydziału Przyrodniczo-Technicznego Uniwersytetu Opolskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Dagny Maculewicz.



dr hab. inż. Grzegorz Lemańczyk, prof. UTP