

Opole, dnia 25.09.2021

Recenzja pracy doktorskiej Pana mgr Karola Lisieckiego wykonana przez

**Dr hab. Ewę Moliszewską, prof. UO**

Tytuł dysertacji doktorskiej:

**Reakcja genotypów pszenicy (*Triticum aestivum* L.) na patogeny z rodzaju  
*Rhizoctonia***

Promotor: **dr hab. inż.. Grzegorz Lemańczyk, prof. uczelni**

Promotor pomocniczy: **dr inż. Aleksander Łukanowski**

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 Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo uchwałą z dnia 29.06.2021 roku opartą na podstawie art. 179.1 Ustawy z dn. 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce; rozdziale 2, art.. 14, ust. 2, pkt. 2 Ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki; Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 3.10.2014 r. Rozdział 1. Szczegółowy tryb przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim; a także piśmie Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo z dn. 30.08.2021 r. dr hab. Joanny Lemanowicz, prof. uczelni.

Charakterystyka i ocena merytoryczna rozprawy

Pszenica jest jedną z najważniejszych roślin żywnościowych świata, ma ogromne znaczenie dla żywienia ludzkości i dlatego jest przedmiotem wielu badań zmierzających do udoskonalenia tej rośliny pod wieloma względami, także pod względem odporności na patogeny odglebowe, do których należy zaliczyć grzyby rodzaju *Rhizoctonia*. Poznanie cech charakteryzujących odmiany pszenicy pod względem wrażliwości/odporności na te patogeny jest ważnym aspektem dla stale

prorowadzonych prac hodowlanych. Zatem temat badań podjętych przez doktoranta ma wysokie walory poznawcze i uytylitarne dla nauki i gospodarki.

Autor podjął się zbadania szerokiego zestawu odmian pszenic - 203 odmiany w warunkach polowych oraz 162 odmiany w warunkach laboratoryjnych, w teście bibułowym. Tak szeroki zakres materiałów roślinnych użytych do badań z pewnością pozwala przyjąć, że autor miał możliwości wyselekcjonowania odmian niosących geny odporności na zastosowane szczepy rodzaju *Rhizoctonia*. W badaniach użyto czterech różnych przedstawicieli rodzaju *Rhizoctonia*, a mianowicie *R. solani* należące do grupy anastomozowej 5 (AG-5), 1-IC (AG1-IC) oraz przedstawicieli dwujądrowych *Rhizoctonia* (BNR), tj. szczepów należących do grup AG-DI i AG-BO. *R. solani* AG1-IC znane są jako patogeny, natomiast AG-5 zaliczane są do słabo patogenicznych lub niepatogenicznych względem większości roślin i zapewne z tego powodu nie są zbyt szczegółowo przebadane. Zatem dużym plusem przeprowadzonych badań jest uwzględnienie przedstawiciela AG-5 obok AG1-IC. Klasycznym patogenem pszenicy jest *R. cerealis* AG-DI, który stanowi podstawę wyodrębniania genotypów z odpornością na rizoktoniozę pszenicy. Praca została wzbogacona o niepatogeniczny szczep AG-BO, który może być uznany za tło dla pozostałych, ale także pokazuje różnorodność interakcji przedstawicieli rodzaju *Rhizoctonia* z roślinami. Badania, jak wspomniano, realizowano w postaci szeroko zakrojonych dwuletnich testów polowych oraz w laboratorium jako klasyczne testy bibułowe. Obok nich zostały wykonane testy aktywności enzymatycznej dla wybranych enzymów powiązanych z patogenezą i reakcjami obronnymi rośliny na wybranych przedstawicielach różnych gatunków pszenic. W laboratorium testowano te same co w polu szczepy rodzaju *Rhizoctonia*, natomiast pszenice wskazane do badań to *T. aestivum* ssp. *aestivum* cv. Toras, *T. turgidum* ssp. *durum* cv. Karmadur, *T. aestivum* ssp. *spelta* cv. Rokosz, *T. sphaerococcum* Percival, *T. persicum* Vavilov. Omówiono i przypisano poszczególnym patogenom zakres powodowanych przez nie zmian chorobowych w odniesieniu do poszczególnych odmian pszenic i wskazano preferencje co do powstawania objawów w zależności od typu patogena, konkludując, że *R. cerealis* AG-DI częściej powoduje zmiany chorobowe na korzeniach porażając je niemal u wszystkich odmian i zróżnicowane zmiany na podstawie pędu, a *R. solani* – choć także porażał korzenie, to jednak w mniejszym stopniu, natomiast silnie niszczył podstawę pędu oraz w mniejszym stopniu powodował nekrozy na liściach niż *R. cerealis* AG-DI. Enzymy badane w testach laboratoryjnych stanowiły markery odporności badanych pszenic. Badano zatem, aktywność chitynaz i glukanaz jako bezpośrednio związanych z ograniczaniem



patogenów w roślinach oraz enzym – dysmutazę nadadtlenkową, związaną z procesem wybuchu oksydacyjnego w komórkach zaatakowanych roślin. Przebadano też zawartość wolnych cukrów w tkankach testowanych pszenic, pojawiających się w odpowiedzi na zainfekowanie.

Otrzymane wyniki zostały wnikliwie przeanalizowane z wykorzystaniem rozbudowanych metod statystycznych, co pozwoliło autorowi na w miarę jednoznaczne wskazanie genotypów niosących cechy odporności na rizoktoniozę. Rezultaty badań pokazały także różnice w reakcjach różnych gatunków i odmian pszenic na zastosowane w badaniach grzyby, ale także naświetliły znaczenie szczegółowego rozpoznania patogena i mikrobioty pola pokazując, że nie każdy szczep rodzaju *Rhizoctonia* jest niebezpieczny, że można unikać porażki uprawowej znając cechy pszenicy oraz mikrobiotę pola, a także, że *Rhizoctonia* BNR mogą działać pozytywnie na uprawiane rośliny. W tym zakresie wskazanym by było dalsze przebadania AG-BO jako potencjalnego czynnika biologicznej ochrony, o czym autor wspomina w dyskusji oraz wnioskach swojej dysertacji.

Wnioski zostały trafnie wyprowadzone i obejmują wskazanie znaczenia poszczególnych badanych grzybów, wskazują odmiany najlepiej nadające się do ewentualnych prac hodowlanych oraz jedną odmianę zupełnie nieprzydatną do takich celów, a także podsumowano poszczególne gatunki pszenic najlepiej wypadające w testach laboratoryjnych, przy czym jedynie pszenicę zwyczajną uznano za dobre źródło cech odporności. Podsumowano także zależności pomiędzy objawami chorobowymi i patogenami oraz reakcjami na poziomie biochemicznym na zakażenie.

### Uwagi

W przeglądzie literatury autor pokusił się o krótką charakterystykę rodzaju *Rhizoctonia*, ale podał niewłaściwą liczbę grup anastomozowych dla *R. solani*, aktualnie liczy ona 13 grup, gdyż AG-BI (błędnie zapisany jako AG-B1) przypisano do grupy AG-2. Mniemam, iż jest to przeoczenie, i nie umniejsza ono wartości pracy.

Moją wątpliwość budzi wyjaśnienie istoty grupy anastomozowej (str. 10) a mianowicie zapis „... zdolność do fuzji somatycznych tzn. zdolne są do fuzji protoplastów...”, gdyż rzeczywiście fuzja zachodzi ale zaraz po niej następuje obumieranie protoplastów (tzw. reakcja C2 wg Carlinga), i to jest właściwa podstawa zaliczenia szczepów do tej samej grupy anastomozowej. Brak obumierania dowodzi wysokiego podobieństwa na zasadzie klonów. Przynależność do grupy nie determinuje zakresu roślin żywicielskich, należy spojrzeć na ten problem raczej w sposób odwrotny, to zwykle jest tendencja utrzymująca się w grupie, co nie wyklucza rozszerzania zakresów roślin

żywielskich (vide AG-11 na buraku cukrowym w Polsce), zwłaszcza, że jak sam autor podkreśla lista potencjalnych roślin żywielskich rośnie i zmienia się, na co niewątpliwie ma wpływ hodowla odpornościowa oraz dość swobodny „przepływ” roślin na świecie.

W rozdziale Metodyka badań zawarto dane meteorologiczne jednakże autor odnosi się do nich tylko jednym zdaniem (str. 27) stwierdzając, iż były one sprzyjające patogenom. Widomo jest, że patogeny z rodzaju *Rhizoctonia* są uzależnione od warunków pogodowych takich jak opady wpływające na zawartość wilgoci w glebie oraz od temperatury. Dane meteorologiczne obejmują pięć lat, natomiast badania prowadzono w latach 2013-14 i 2016-17. Bardzo lakonicznie opisano proces zakażenia poletek doświadczalnych, widomo tylko, że używano po 15 g inokulum na poletko, ale trudno jest ocenić czy dodawano je przed siewem, równocześnie z siewem, tuż po siewie, z opisu wynika jedynie, że było to wykonane niejako równocześnie, ale jak? Jak wyglądała dystrybucja patogena? Rzędowo, czy na całej powierzchni poletka? Zagadnienie rozdystrybuowania patogenów z rodzaju *Rhizoctonia* jest problemem ogólnie znanym hodowcom i wymaga ostrożnego i uważnego podejścia po to by mieć pewność, iż rzeczywiście każda roślina miała możliwość kontaktu z grzybem. Na tym tle szczegółowo opisano sposób przygotowania inokulum, co jest mocną stroną pracy.

Nie wspomniano w opisie pszenic o tym czy są to odmiany jare czy ozime, jedynie z rozszerzenia lat badań można domyślać się, że chodzi o ozime, jednakże ponieważ nie wszystkie odmiany figurują na liście aktualnych odmian COBORU, to trudna jest jednoznaczna i szybka ich ocena. Tak więc, brak choćby pobieżnej charakterystyki badanych odmian.

W całej pracy zauważyłam dużą liczbę błędów edytorskich, takich jak rozpoczynanie zdania od małej litery (np. str. 10, wers 18 od góry; str. 11 wers 20 od góry; str. 18, wers 2 od góry; str. 22 wers 3 od dołu), pominięte litery (np. str. 12, wers 15 od dołu, gdzie jest: „dostateczne skutecznej”, a powinno być: „dostatecznie skutecznej”), błędna odmiana (str. 10, wers 7 – jest: „wynikający”, powinno być: „wynikających”; str. 13, wers 16 od góry, gdzie jest: „... było 1000 ppm...” a powinno być: „... wynosiła 1000 ppm...”; str. 16 wers 3 do dołu, gdzie jest: „... umożliwiając patogenom na wniknięcie”, a powinno być: „... patogenom wniknięcie”; str. 21, wers 19 od góry, jest: „jego”, powinno być: „ich” – czyli grzybów), błędy ortograficzne (str. 16, wers 9 od dołu, gdzie jest: „nie pataogenem” a powinno być „niepatogenem” – pisownia nie z rzeczownikami jest łączna co do zasady nie jest to przeciwstawienie, a konkretne wskazanie typu, więc zachodzi potrzeba pisania łącznego; str. 25, wers 1 od dołu jest: „nie pobudzonych”, a powinno być:



„niepobudzonych” – pisownia nie z przymiotnikami jest łączna co do zasady), zapomniane znaki interpunkcyjne (częste braki przecinka: np. str. 15, wers 7 od góry i 16 od dołu; str. 15, wers 1 od dołu; str. 18, wers 4 od góry; str. 20, wers 7 od góry i 5 od dołu; str. 21, wers 3 i 13 od dołu; str. 23, wers 1 od góry i 15 od dołu, itd.), luki i skróty myślowe (np. str. 12, wers 20 od dołu gdzie jest: „... Grzyby należące do *Rhizoctonia*...” a powinno być „... rodzaju *Rhizoctonia*...”; str. 15, wers 16 od dołu: jest: „*Rhizoctonia*”, a powinno być „*Rhizoctonia* spp.”; ta sama strona wers 12 od dołu: „... *Trichoderma hamatum* ... hamowała” powinno być „hamował” – grzyb to rodzaj męski; str. 15, wersy 4, 5 i 11 od dołu „... *Trichoderma*” a powinno być „*Trichoderma* sp./spp.” – podobnych luk jest znacznie więcej, są to skróty myślowe dopuszczalne w języku mówionym ale nie w tekście naukowym, gdzie należy zastosować ścisły zapis np. grzybów rodzaju *Rhizoctonia/Trichoderma* lub *Rhizoctonia* sp./spp./*Trichoderma* sp./spp., przy czym autor stosuje czasem taką właśnie formę zapisu, np. str. 16, wers 18 od dołu; str. 53, wers 15 od góry jest: „... ma poziomie”, a ma być: „... na poziomie”; str. 66, wersy 1-3 od dołu, gdzie jest: „... w przypadku liczności porażonych roślin warianty kontrolne oraz *Rhizoctonia* AG-BO charakteryzowały się brakiem objawów chorobowych”, a powinno być: „... warianty kontrolne oraz zakażane *Rhizoctonia* AG-BO... „). W całej pracy jest podobnych uchybień więcej, stanowią one jedynie o braku dokładności edytorskiej, a nie mają znaczącego wpływu na jakość merytoryczną.

Wczytując się w pracę można znaleźć w niej kilka fragmentów zasługujących na szczególną uwagę, jak np. stwierdzenie zawarte na str. 41-42, a dotyczące objawów chorobowych, str. 70, a dotyczące oddziaływania izolatu AG-5 na biomasę roślin pszenicy, co wyraźnie wskazuje na jego patogeniczny charakter niekoniecznie odzwierciedlony w typowych objawach związanych z plamami nekrotycznymi; str. 80 – rola organizmu niepatogenicznego w aktywności defensyn. Autor szeroko i wnikliwie analizuje wyniki uzyskane podczas oceny aktywności badanych enzymów i zawartości wolnych cukrów, co znacząco podnosi wartość pracy. Na jej walory ma także wpływ zastosowanie szerokiego wachlarza analiz statystycznych.

#### Ocena formalna rozprawy

Do oceny przesłano mi rozprawę doktorską mgr Karola Lisieckiego, która liczy 147 stron druku, w tym streszczenia w j. polskim i angielskim oraz aneks z siedmioma barwnymi fotografiami. Wymieniony na wstępie tytuł rozprawy odpowiada jej treści. Praca spełnia wymogi stawiane dysertacjom doktorskim. Składa się z właściwie dobranej kolejności rozdziałów w liczbie 7-miu o

charakterze merytorycznym oraz dalszych 5-ciu uzupełniających o charakterze pomocniczym (w sumie 12 rozdziałów). Cel główny postawiony tejże pracy został zrealizowany wraz z celami pomocniczymi. Praca zawiera wprowadzenie w zagadnienie w postaci wstępu oraz przeglądu literatury, które to naświetlają problematykę realizowanego tematu badań. W tym celu, a także w opracowaniu Dyskusji (rozdz. 6) posługiwano się dobrze dobraną literaturą tematu z zakresu zarówno uprawy, hodowli jak i fitopatologii oraz szeroko pojętej biologii związanej z omawianymi problemami. Rozprawę zakończono dziesięcioma wnioskami. W jej przygotowaniu autor posługiwał się 162 pozycjami literatury polsko i angielskojęzycznej. Zilustrowano ją w sumie ośmioma fotografiami oraz 33 rysunkami i 19 tabelami.

#### Wnioski końcowe

Praca doktorska mgra Karola Lisieckiego stanowi wartościowy materiał zarówno z punktu widzenia hodowli odpornościowej pszenicy jak i fitopatologii oraz mykologii. Z całą pewnością może być ona wykorzystana w pracach hodowlanych, a więc oprócz znaczenia poznawczego ma walory użytkowe. Oceniam ją bardzo wysoko pomimo wskazanych uchybień.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Karola Lisieckiego 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, tekst jednolity opracowany na podstawie: t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789] i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy o dopuszczenie mgra Karola Lisieckiego do jej publicznej obrony.

Dr hab. Ewa Moliszewska, prof. UO