

Dr hab. inż. Wojciech Pusz, prof. UPWr.
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Zakład Fitopatologii i Mykologii
pl. Grunwaldzki 24a
50-363 Wrocław

Wrocław, dn. 27.08.2019 r.

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej **mgr inż. Aleksandry Rybińskiej**
pt. "Mykobiota związane z nymfeidami wybranych stanowisk Pobrzeża Szczecińskiego"
wykonanej na Wydziale Nauk o Żywności i Rybactwa,
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
Promotor rozprawy: prof. dr hab. Kinga Mazurkiewicz-Zapałowicz

Niniejszą recenzję sporządzono w odpowiedzi na pismo Dziekana Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, pani dr hab. Agnieszki Tórz, prof. ZUT, z dnia 26 czerwca 2019 roku, informującego o wyznaczeniu mojej osoby przez Radę Wydziału na opiniodawcę w przedmiotowej sprawie.

Problematyka badawcza podjęta w pracy

Nymfeidy są niezwykle cennym elementem przyrody Pobrzeża Szczecińskiego. Z racji występowania na obszarach ujętych w tzw. dyrektywie habitatowej Unii Europejskiej stanowią one nieodłączny element ekosystemów wodnych, wpływając bezpośrednio i pośrednio na inne organizmy żywe. Z racji tego faktu wchodzi w skład siedliska Natura 2000 - „Starorzecza i naturalne zbiorniki wodne” (kod 3150). Większa bioróżnorodność nymfeidów, a także ściśle z nimi powiązanych organizmów fito- i zooperyfitonu, zwiększa różnorodność gatunkową, a także liczebność zarówno bezkręgowców jak i kręgowców. Dodatkowo nymfeidy stanowią ochronę przed czynnikami abio- jak i biotycznymi dla szeregu gatunków związanych ze środowiskiem wodnym oraz pełnią istotną rolę w biologii ryb. Trudno pominąć wpływ nymfeidów na kształtowanie warunków fizykochemicznych wód i ich zdolność do akumulacji metali ciężkich czy też pierwiastków biogennych co z kolei może prowadzić do samooczyszczania się zbiornika wodnego. Nymfeidy znajdują także swoje zastosowanie w przemyśle i medycynie.

Uwzględniając znaczenie nymfeidów w życiu biologicznym zbiornika wodnego oraz ich wpływ na całe środowisko wodne wydaje się niezmiernie słusznym wybór niniejszego tematu rozprawy doktorskiej przez panią mgr Aleksandrę Rybińską. Doktorantka postawiła sobie ambitne cele badawcze na które składało się (1) określenie składu gatunkowego mykobioty wpływającej na zdrowotność nymfeidów (2) wskazanie na potencjalne zagrożenia dla ichtiofauny, wynikające z obecności grzybów (oraz organizmów grzybopodobnych) na nymfeidach, a także (3) określenie aktywności grzyba *Colletotrichum nymphaeae* oraz możliwości jego ograniczenia przez grzyby drożdżoidalne.

Merytoryczna ocena pracy

Autorka w części rozprawy poświęconej przeglądowi stanu wiedzy w rzetelny sposób zapoznaje czytelnika ze znaczeniem nymfeidów dla ekosystemów wodnych, starając się udowodnić, że ograniczenie występowania tej grupy roślin może wpłynąć na życie biologiczne w danym zbiorniku wodnym. Wszystkie argumenty popiera starannie dobranym materiałem źródłowym. Autorka przechodzi następnie do przeglądu materiałów źródłowych, opisujących rolę grzybów mikroskopowych dla organizmów żyjących w środowisku wodnym, wskazując na niedostateczny poziom poznania tego problemu. Mając pełny obraz przedstawionego zagadnienia uważam, że kolejny podrozdział, w którym pani mgr opisuje znaczenie mykobioty w biologicznej ochronie roślin został potraktowany nieco powierzchownie i nie jestem przekonany czy został on umieszczony w odpowiednim miejscu rozprawy. Nie znalazłem w tym miejscu informacji jak wygląda rynek biologicznych środków ochrony roślin w naszym kraju. Proszę aby Doktorantka odpowiedziała na pytanie jak dużo jest na rynku krajowym takich preparatów? Jakie są według Niej „minusy” tego rodzaju środków ochrony roślin?

Po części poświęconej wykorzystaniu grzybów w biologicznej ochronie roślin pojawia się podrozdział, opisujący aktualny stan badań nad mykobiotą związaną z nymfeidami na świecie i w Polsce. Niektóre sformułowania są w moim mniemaniu zbyt potoczne jak chociażby wykorzystanie przez Autorkę słów na stronie 15: „(...) zagrożenie dla zdrowia NA (...)” czy też „(...) pogorszyło istotnie zdrowia roślin (...)”. Co Doktorantka miała na myśli pisząc, o „istotnym pogorszeniu zdrowia rośliny”? Niedociągnięciem tej części pracy jest wymienienie za każdym razem pełnej nazwy gatunkowej grzyba. Normą jest, że tylko za pierwszym razem podawana jest pełna nazwa tzn. rodzajowa i gatunkowa, a następnie tylko pierwsza litera nazwy rodzajowej. Proszę aby Autorka miała to na względzie gdy będzie przygotowywać manuskrypt celem jego opublikowania w fachowej literaturze. Interesuje mnie czy opisywane przez Doktorantkę gatunki nymfeidów, które są „uprawiane” w warunkach amatorskich w zbiornikach sztucznych także chorują? Ostatnie dwa akapity podrozdziału 3.7 są bardzo chaotycznie napisane, bez odniesienia do poprzednich akapitów co powoduje, że sprawiają wrażenie „doklejonych”. Moim zdaniem warto było tę część podsumować kilkoma zdaniem, wskazując na doniosłość niniejszej pracy doktorskiej i jej pionierski charakter.

Chaos wkrada się także do kolejnego rozdziału rozprawy, poświęconego opisaniu metodyki badawczej. Badania terenowe prowadzone były w latach 2015 – 2017 na 15 stanowiskach zlokalizowanych na terenie Pobrzeża Szczecińskiego. Doktorantka wymienia punkty

badawcze - niestety zastosowana numeracja wprowadza nieco zamieszania gdyż numery stanowisk badawczych rozpoczynają się od liczby 14. W kolejnej części opisuje objawy chorobowe jakie obserwowala wraz z terminami zbioru materiału roślinnego, wyjaśniając na stronie 21 sytuację związaną z uzyskaniem pozwoleń na pobór roślin wydaną przez Regionalną Dyрекcję Ochrony Środowiska w Szczecinie, by na stronach 22 – 23 opisać dokładnie badane stanowiska. Jest to niefortunne ułożenie tekstu, utrudniające sprawne poruszanie się czytelnika po tekście rozprawy. Jeszcze większy dyskomfort odczułem gdy na stronie 23 znalazł się opis Jeziora Świdwie podczas gdy w dalszej części rozprawy Autorka zamieszcza dokładny opis Rezerwatu (prawdopodobnie chodzi o Rezerwat Przyrody Świdwie bo Doktorantka nie używa pełnej nazwy tego obiektu skupiając się na słowie „Rezerwat”). W tabeli numer 6 wymienia stanowiska badawcze należące do sieci Natura 2000 wraz z ich kodami. W przyszłości, gdy Autorka będzie przygotowywać tekst do ewentualnego artykułu konieczne jest przeredagowanie tej części rozprawy, skrócenie jej i przedstawienie informacji o stanowiskach badawczych w jednej, a nie jak obecnie w czterech tabelach.

Kolejne moje pytanie związane jest z informacjami zawartymi w tabeli numer 2. Czy była oceniana w jakikolwiek sposób zdrowotność roślin? Jeśli tak to według jakiej skali? Daje się zauważyć, że w niektórych latach Autorka nie pobierała gatunków roślin do badań laboratoryjnych – czy jak miemam było to związane z brakiem występowania objawów chorobowych? Pragnę także zauważyć, że na stronie 19, w miejscu gdzie Doktorantka wymienia objawy chorobowe, używa w tym celu słowa „gnicie”. Proponuje w przyszłości używać sformułowania bardziej trafne i zdecydowanie częściej wykorzystywanego w słownictwie fitopatologicznym, a mianowicie „zgnilizny”.

W punkcie 4.1.2. Doktorantka informuje o danych meteorologicznych, przedstawiając dane z trzech stacji. Moim zdaniem brakuje w tym miejscu krótkiego opisu/podsumowania jak wyglądał przebieg pogody w badanych okresach. Trudno wyciągnąć jakiegokolwiek wnioski, analizując tabelę z wartościami oraz cztery wykresy, które mogłyby być połączone w jeden zbiorczy wykres, gdzie dane przedstawione byłyby w czytelniejszy sposób niż to ma miejsce w ocenianej formie. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku punktu 4.1.3 gdzie pani magister w dwóch tabelach przedstawia wartości badań fizyko-chemicznych wody bez jakiegokolwiek komentarza, który w tym miejscu powinien się znaleźć. Pozostawiam do dyskusji kwestię czy owe wyniki powinny znaleźć się w rozdziale poświęconym metodyce badawczej.

Podrozdział 4.2.1 poświęcony został opisowi procedur badawczych wykorzystywanych podczas izolacji grzybów. Proszę aby Doktorantka opisała jak były transportowane pobrane rośliny ze stanowiska badawczego do laboratorium? W okresie miesięcy letnich, gdy panują wysokie temperatury, zbyt długie przechowywanie materiału roślinnego może wpłynąć na uzyskane wyniki izolacji i skład gatunkowy uzyskanych kolonii grzybów. Brakuje mi informacji dotyczącej czasu odkażania fragmentów roślinnych 70% etanolem. Istnieje w tym miejscu pewna nieścisłość spowodowana zapewne pośpiechem podczas opracowywania rozprawy doktorskiej. Pani magister wymienia organy roślinne z których wykonywała izolację, pozyskując fragmenty porażonych roślin o wymiarach 30 – 50 x 30 – 50 mm. Proszę o wyjaśnienie, która część ogonka liściowego była pobierana do badań? Mając na uwadze podane przez Autorkę wymiary to chodzi zapewne o część dolną, najgrubszą? Proszę także o wyjaśnienie czy uzyskane kolonie grzybów były następnie pasażowane celem ich oznaczenia do gatunku na tzw. skosach?

Kolejne podrozdziały zostały opracowane prawidłowo, nie mam większych uwag co do ich zawartości. Proszę jednak o wyjaśnienie dlaczego do badań nad wpływem grzybów drożdżoidalnych na *Colletotrichum nymphae* zostały wykorzystane drożdże z rodzaju *Pichia*?

Cześć poświęcona wynikom została opracowana dosyć starannie. Moje zastrzeżenia budzi tabela numer 13. Brak w niej opisu co oznacza cyfra „1” przy danym gatunku grzyba oraz roślinie żywicielskiej. Czy Autorka miała na myśli występowanie danego gatunku grzyba? Jeśli tak to w takim przypadku trafniej byłoby zamiast cyfry umieścić np. znak „+” określający także liczebność. Szkoda, że ta tabela została w takim sposób opracowana bo nie jest do końca czytelna dla fitopatologa, który w tym miejscu oczekiwałby raczej frekwencji występowania danego gatunku grzyba niż samej informacji, że takson jest lub go nie ma na danym gatunku rośliny żywicielskiej. Sytuacji nie rozwiązują tabele zamieszczone w aneksie. Moim zdaniem są nieczytelne. Wydaje mi się zbędne opisywanie liczby taksonów uzyskanej z poszczególnych roślin żywicielskich, których dokonała Doktorantka w podrozdziałach 5.1. – 5.3. gdyż do opisu wystarczyłby jeden wykres, który zresztą znajduje się w pracy na stronie 45. Z punktu widzenia fitopatologicznego znacznie lepiej opracowana jest część poświęcona frekwencji i dominacji poszczególnych gatunków grzybów mikroskopowych zasiedlających nymfeidy. Autorka wymienia m. in. grzyby z rodzaju *Alternaria* czy też *Fusarium* jako te, które często występują na badanych roślinach żywicielskich. Ogromnym plusem tej części pracy są fotografie wyizolowanych z nymfeidów grzybów.

Wyniki opisujące badania nad wybranymi właściwościami grzyba *C. nymphaeae* są bardzo starannie opisane, a same przeprowadzenie tych doświadczeń wskazuje na opanowanie warsztatu laboratoryjnego przez panią magister. Moja uwaga dotyczy jedynie prośby o wyjaśnienie co Doktorantka miała na myśli, pisząc o „złym stanie” – kolonii grzybów czy zakażanej rośliny (?) na stronie 67 w podrozdziale 5.6.3, poświęconym testom patogeniczności *C. nymphaeae*.

Kolejny rozdział Doktorantka poświęciła dyskusji uzyskanych wyników w zestawieniu z wynikami badań innych badaczy. Razi nadmierne wykorzystywanie skrótów literowych nazw gatunkowych nymfeidów. Moim zdaniem jest tego zbyt dużo co znacznie utrudnia wnikliwą analizę tekstu. Wydaje mi się, że Autorka niepotrzebnie rozdzieliła akapity opisujące wpływ grzyba *Botrytis cinerea* na populację badanych roślin. Rozpoczyna opis swoich wyników w aspekcie prac innych badaczy na stronie 72, by następnie skupić się na omówieniu występowania pozostałych gatunków. Do *B. cinerea* „wraca” na stronie 74 – czy zatem nie byłoby słuszniejsze połączenie tych dwóch akapitów, które dotyczą wspomnianego gatunku grzyba? Doktorantka używa na stronie 74 pojęcia „fyllosfera” w aspekcie uzyskanych przez nią wyników. Zastosowana przez nią metoda badawcza, opisana na stronie 31, moim zdaniem uniemożliwiała dokładne i prawidłowe określenie składu gatunkowego fyllosfery. Liście odkażano 70% etanolem, a kolonie grzybów stymulowano do wzrostu w warunkach wilgotnej komory. Pragnę przypomnieć, że jedną z wielu metod izolacji grzybów zasiedlających blaszkę liściową jest chociażby metoda popłuczyn, a tego Autorka nie wykonała (lub nie zamieściła w pracy). Na stronie 75 Autorka odnosi się do uzyskanych przez nią wyników badań, pisząc: „Na tych akwenach zbiorowiska nymfeidów porastały do 70% powierzchni lustra wody, co wiąże się z rozkładem dużej ilości materii organicznej, w przypadku masowego porażenia roślin przez mykobiotę, na stosunkowo niewielkim zbiorniku”. Wydaje mi się, że zastosowany został w tym miejscu skrót myślowy. Doktorantka nie badała zdrowotności roślin w fitopatologicznym ujęciu, o czym już pisałem wcześniej, nie wiem

zatem jak rozumieć „masowe porażenie roślin”? Po drugie czy każdy gatunek grzyba poraża/infekuje rośliny? Bardziej adekwatnym sformułowaniem byłoby słowo „zasiedlające rośliny”. Proszę panią magister o ustosunkowanie się do tej uwagi. Ze zdań zamieszczonych w tej części rozprawy wysuwa się obraz grzybów, a szczególnie gatunków patogenicznych dla roślin, jako negatywnego czynnika, który może prowadzić do destrukcji ekosystemu wodnego. Proszę aby Doktorantka odniosła się do tej kwestii w aspekcie występowania patogenów roślin w środowiskach mało zmienionych przez człowieka, a takimi są niektóre z badanych zbiorników wodnych. Czy faktycznie jest to tylko rola negatywna? Odpowiedź wydaje się interesująca gdyż na końcu tej części rozprawy Autorka wysuwa wniosek o ewentualnych zaleceniach, dotyczących wykorzystania metody biologicznej w ograniczeniu patogenów nymfeidów na obszarach chronionych co moim zdaniem jest zbyt daleko posuniętym stwierdzeniem.

Część pracy zatytułowana „Wnioski” zawiera 10 punktów, które moim zdaniem są prawidłowo sformułowane lecz ułożone w nieco chaotyczny sposób. Autorka powinna w tym miejscu odnieść się do założonych celów badawczych, na które składało się (1) określenie składu gatunkowego mykobioty wpływającej na zdrowotność nymfeidów (2) wskazanie na potencjalne zagrożenia dla ichtiofauny, wynikające z obecności grzybów na nymfeidach, a także (3) określenie aktywności grzyba *Colletotrichum nymphaeae* oraz możliwości jego ograniczenia przez grzyby drożdżoidalne. Uważam, że założone cele zostały spełnione. Pani magister określiła skład gatunkowy grzybów, opisując nowe dla naszego kraju gatunki. Określiła także aktywność gatunku *C. nymphaeae* i zbadała możliwości jego ograniczenia przez grzyby drożdżoidalne. Trzeci z założonych celów, związany z potencjalnymi zagrożeniami dla ichtiofauny także został spełniony. Proszę jednak o wyjaśnienie wniosku numer 7, który brzmi „Zwiększenie udziału mykobioty w dekompozycji roślin może wpłynąć na skrócenie ich wegetacji, co stanowi zagrożenie dla rozrodu i rozwoju ryb”. Czy Autorka miała tu na myśli porażenie roślin przez grzyby patogeniczne czy rozkład tkanek przez saprotrofy?

Formalna ocena pracy

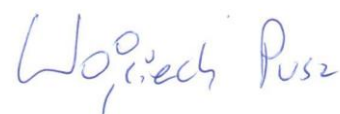
Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mieści się w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Praca liczy 120 strony maszynopisu, w tym 12 tabel, 15 wykresów oraz 19 zbiorów fotografii. Autorka podzieliła swoją rozprawę na 8 rozdziałów z podrozdziałami I i II rzędu, a także aneks, zawierający tabele. Kolejność pracy stanowi przemyślany układ w którym trudno znaleźć jakiegokolwiek uchybienia. Świadczy to o dobrym przygotowaniu Doktorantki do interpretacji oraz omówienia uzyskanych wyników, chociaż jak już wcześniej wspominałem Autorka powinna starannie przygotować do ewentualnych publikacji część graficzną pracy w tym wykresy i tabele. Atutem rozprawy jest bogata literatura na którą składa się 274 pozycji (z czego 217 to pozycje anglojęzyczne) z których korzystała Doktorantka podczas pisania dysertacji. Sama rozprawa napisana została starannie, a stosunkowo niewielka liczba błędów natury gramatycznej i stylistycznej oraz niedociągnięcia edytorskie nie wpływają na moją pozytywną oceną formalnej strony pracy.

Wnioski końcowe

Recenzowaną pracę doktorską oceniam bardzo dobrze. Stanowi ona oryginalny, znaczący wkład w dotychczasowy dorobek naukowy w objętych badaniami zakresie. Należy podkreślić aplikacyjny charakter pracy, która może zostać wykorzystana w bioindykacji zbiorników wodnych, w hobbystycznej uprawie roślin wodnych czy wreszcie przez podmioty, zajmujące się gospodarką rybacką. Pragnę nadmienić, że Doktorantka we właściwy sposób przeprowadziła interpretację uzyskanych wyników, które następnie zestawiała z wynikami innych badaczy, a podjęty przez nią temat uważam za cenny dla badań nad grzybami mikroskopowymi w środowisku wodnym.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o tytuł doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo, określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789) oraz Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 26.09.2016 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. z 2016 r. poz 1586).

W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie wnioszek o dopuszczenie do publicznej obrony pani mgr inż. Aleksandry Rybińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Wojciech Pusz