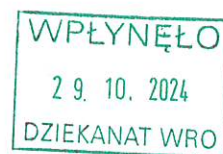


dr hab. inż. Jacek Nawrocki
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
Katedra Botaniki, Fizjologii i
Ochrony Roślin
Al. 29 Listopada 54
31-425 Kraków

Kraków, 24.10.2024



Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Marcina Wieczyńskiego pt. „Charakterystyka wybranych izolatów grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, sprawcy zgnilizny twardzikowej marchwi”

**Praca wykonana w Katedrze Fitopatologii i Nasiennictwa na Wydziale Rolnictwa,
Ogrodnictwa i Biotechnologii, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
pod kierunkiem dr hab. inż. Tomasza Kosiady prof. UPP.**

Podstawa opracowania recenzji

Niniejszą recenzję przygotowałem na podstawie pisma Pana prof. dr hab. Andrzeja Bleharczycy, Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, datowanego 2 lipca 2024 r. i informującego o powołaniu mnie, jako recenzenta rozprawy doktorskiej mgr inż. Marcina Wieczyńskiego uchwałą Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo nr RNDRIO-32/4000/2024.

Zasadność podjęcia tematu pracy doktorskiej

Grzyb *Sclerotinia sclerotiorum* został opisany po raz pierwszy już w 1837 r. przez Marie Anne Libert pod nazwą *Peziza sclerotiorum*, a ostateczną nazwę w 1884 r. zatwierdził Heinrich Anton de Bary. Jest to grzyb o bardzo szerokim zasięgu geograficznym, rozwijający się także w szerokim zakresie temperatur od 0°C do powyżej 32°C. Jest grzybem uważanym za najbardziej niespecyficznym i polifagicznym, szybko rozwijającym się na terenach o chłodnym i wilgotnym klimacie. Poraża ponad 400 gatunków roślin, przede wszystkim rośliny dwuliścienne, rzadko jednoliścienne. Największe zagrożenie stanowi dla większości upraw warzyw z różnych rodzin, zwłaszcza Apiaceae, Brassicaceae i Fabaceae, a także dla roślin przemysłowych tj. burak, rzepak, soja, słonecznik i tytoń. Wśród warzyw korzeniowych największe straty w Polsce powoduje w uprawie pietruszki i marchwi. Patogen

Niestety prawdopodobnie pośpiech spowodował, że teksty całej pracy wystąpiły dość liczne omyłki związane z formatowaniem tekstu, prawdopodobnie wynikające z różnych wersji edytora tekstu, w którym zapisano tekst oraz innej wersji z której drukowano całą pracę.

Uwagi do rozdziału:

Bary wydaje się aktualne, ważne i uzasadnione.

badan dotyczących charakterystyki niektórych izolatów *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de vegetacji jak i podczas przechowywania. Podjęcie się przez mgr inż. Marcina Wiczyńskiego twarzikowa nadal pozostaje jedną z najważniejszych chorób marchwi, zarówno w trakcie świeżości, a zarazem podał przyzwykłe podjęcie się realizacji takiego tematu badan. Zgnilizna Autor przedstawił informacje dotyczące znaczenia uprawy marchwi w Polsce i na

Wstęp

Charakterystyka pracy z podziałem na rozdziały

przedstawione w 24 tabelach oraz na 25 rycinach.

odnośnik do strony internetowej. Prezentowane w pracy materiały i metody oraz wyniki są metody, 32 – Wyniki, 13 – Dyskusja, 2 – Wnioski oraz 171 pozycji literatury, w tym 1 strona - Wstęp, 14 – Przegląd literatury, 1 – Cel badan i hipoteza badawcza, 11 – Materiał i Przedstawiona do recenzji rozprawa obejmuje 108 numerowanych stron, w tym 1 upraw podatnych na infekcje grzybem *Sclerotinia sclerotiorum*.

w celu wykorzystania tej wiedzy do opracowania prawidłowej ochrony marchwi i innych uzyskanie nowych danych dotyczących grzybnego polifaga, sprawy zgnilizny twarzikowej, przez Autora badan obejmujących zweryfikowanie dotychczasowych informacji oraz indukuje odporność w roślinach. Z tych powodów niezwykle cennym wydaje się podjęcie wiele wykazuje nie tylko bezpośrednio działanie na agrotagi ale również w sposób pośredni patogenach a także stosowania środków biotechnicznych oraz biopreparatów z posród których wskazuje na konieczność poszukiwania innych metod ochrony z wykorzystaniem wiedzy o chemicznych środkach ochrony roślin, w ramach tzw. Europejskiego Zielonego Ładu, klimatycznych. Obecnie polityka Unii Europejskiej zmierzająca do ograniczenia zużycia strzępek grzybnymi powoduje szybki rozwój patogena w optymalnych warunkach Również krótki cykl rozwojowy grzyba, w tym zdolność do infekcji roślin kawkalkami wytwarzanie przez patogena licznych sklerot, które mogą przetrwać w glebie nawet do 4 lat. podczas przechowywania mogą sięgać nawet 30%. Dodatkowo dużym zagrożeniem jest ale także w trakcie przechowywania nawet w bardzo niskich temperaturach. Straty plonu zdolny jest do powodowania uszkodzeń warzyw korzeniowych nie tylko w okresie wegetacji,

Podany rok wydania podręcznika pod redakcją Kryczyńskiego i Webera jest błędny, powinien być rok 2011 a nie 2010. Podobnie pozycja Edelenbos i wsp. jest 2020, powinien być rok 2010. Niepotrzebnie tu umieszczono szczegółowe informacje dotyczące sposobu kiełkowania sklerot, można je zamieścić w przeglądzie literatury.

Cel pracy

Doktorant prawidłowo przedstawił cel pracy jak i cele szczegółowe. Hipoteza badawcza została poprawnie sformułowana. Nasuwa się tylko jedno pytanie, jeżeli Autor badał patogeniczność *S. sclerotiorum* wobec korzeni i siewek w fitotronie, to cenne byłyby także badania skuteczności środków chemicznych w takich warunkach, a nie tylko *in vitro*.

Przegląd literatury

Autor przedstawił obszerny i wnikliwy przegląd literatury dotyczącej planowanych doświadczeń w sposób, który sprawia, że tak obszerne realizowane zagadnienie zostało przedstawione bardzo przejrzysto i zrozumiale dla czytającego. Doktorant w tym rozdziale omówił wszystkie aspekty prowadzonych badań wykorzystując do tego celu krajowe i światowe publikacje. Przegląd literatury oraz dyskusja zawierają 171 pozycji literatury z różnych ośrodków naukowych nie tylko polskich ale i zagranicznych, a zdecydowana większość z nich (130) została opublikowana po 2000 roku, a tylko 18 publikacji w języku polskim.

Doktorant zaprezentował rys historyczny i charakterystykę marchwi, jej znaczenie gospodarcze oraz wartości odżywcze tego warzywa. Następnie Doktorant omówił objawy chorobowe zgnilizny twardzikowej powodowanej przez *Sclerotinia sclerotiorum* na różnych roślinach. Bardzo istotne znaczenie ma opisanie etiologii i epidemiologii zgnilizny twardzikowej, gdyż informacje te mają istotne znaczenie w planowaniu i przeprowadzeniu badań nad tym polifagicznym grzybem. W dalszej części Doktorant przedstawił szkodliwość i znaczenie sprawcy zgnilizny twardzikowej na przykładzie marchwi w różnych okresach uprawy jak i w trakcie przechowywania. Kolejno Autor omówił zwalczanie *S. sclerotiorum* z wykorzystaniem różnych metod, począwszy od metody agrotechnicznej: dobór odmian, płodozmian, uprawa roli, nawożenie, zastosowanie roślin okrywowych. W metodzie hodowlanej Autor zwrócił uwagę na mechanizmy odpornościowe marchwi oraz na wdrożenie inżynierii genetycznej w celu uzyskania odporności rośliny uprawnej. W metodzie biologicznej ochrony marchwi najbardziej rozpowszechniło się stosowanie środków opartych na *Coniothyrium minitans* nadpasożycie sklerot patogena. Doktorant zwrócił także uwagę na inne pożyteczne mikroorganizmy wykorzystywane w ochronie upraw przed sprawcą zgnilizny twardzikowej. Należałoby używać pełnych nazw środków ochrony roślin, oraz

Material i metody Na podstawie prawidłowo dobranej literatury mgr inż. Marcin Wiecezyński szczegółowo omówił warunki, w jakich prowadził badania, przyjmując metodyki ogólnie stosowane w innych ośrodkach prowadzących badania z zakresu fitopatologii, biologii molekularnej, fizjologii i ochrony roślin. W latach 2015-2016 zgromadził materiał roślinny z objawami zgnilizny twardzikowej na różnych roślinach a następnie wyizolował 62 izolaty patogena zgodnie z metodyką badań mikologicznych. Po identyfikacji mikologicznej potwierdzono identyfikację grzyba z zastosowaniem metody biologii molekularnej SCAR PCR. Do dalszych badań wykorzystano 9 izolatów, w tym dwa izolaty *S. sclerotiorum* wyosobnione z marchwi. Nasuwa się pytanie, czy nie można było uwzględnić więcej różnych izolatów patogena pozyskanych z marchwi w stosunku do pozostałych roślin żywicielskich,

! Desai 1984; s. 17 Andrade i wsp. 2016;
wymienionych w tekście ale nie w spisie literatury: np. s. 12 Merriman 1976; s. 15 Salunkhe tego autora z zespołem ale z innymi latami wydań. Braki cytowanych pozycji literaturowych Nawrocki i Mazur 2007; s. 21 jest Ojaghian i wsp. 2020, w spisie literatury jest kilka pozycji w spisie literatury jest Włodarek i wsp. 2013; s. 20 Mazur i Nawrocki 2007, powinno być jest Lewis i wsp. 1983, powinno być: Lewis i Garrod 1983; s. 20 jest Włodarek i wsp. 2003, jest Foster i wsp. 2011; s. 16 jest Patkowska 2021, powinno: Patkowska i wsp. 2020; s. 17 2003, powinno być: Włodarek i wsp. 2013; s. 15 jest Foster i wsp. 2012, w spisie literatury 2010; s. 15 jest Robak i wsp. 2007, powinno: Robak i Adamicki 2007; s. 15 jest Włodarek Błędy w cytowaniu autorów: s. 8 jest Arscott i wsp. 2010, powinno: Arscott i Tanumihardjo nazwie gatunkowej brak litery c.

literowe jak i nierozdzielone wyrazy. Np. s. 11 w nazwie grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* w Nieestety jak w pozostałych częściach pracy występują dość liczne omyłki interpunkcyjne, Uwagi do rozdziału:

biologiczne i biotechniczne pomocne do ochrony pozbiorezowej korzeni.
warunki jakie należy zapewnić korzeniom w tym okresie. Autor opisał także preparaty Doktorant opisał ochronę korzeni marchwi ich podczas przechowywania, zwracając uwagę na preparatów jest dużo, a faktycznie jest to mała liczba. Pod koniec przeglądu literatury Niepotrzebnie przedstawianie całej listy fungicydów stwarza złudne wrażenie, że tych określić ile substancji chemicznych faktycznie jest stosowanych w uprawie marchwi. przedstawienie preparatów oraz ich generyków w oddzielnych grupach, tak, aby łatwo można roślin zarejestrowane do ochrony marchwi przed zgnilizną twardzikową. Korzystniej byłoby WG wcześniejszej nazwanym tylko Contans WG. Autor pracy przedstawił także środki ochrony uwzględnić ich aktualizację, np. obecnie mamy do czynienia z preparatem Lalstop Contans

zgodnie z założeniem celu pracy. Kolejnym etapem badań był test oceny wzrostu liniowego grzybni testowanych izolatów w różnych warunkach termicznych. Celem doświadczenia było określenie optymalnej temperatury dla wzrostu grzybni oraz wytwarzania sklerocjów. Doktorant przeprowadził także badania nad zdolnością wytwarzania kwasu szczawiowego, ważnego związku w patogenezie *S. sclerotiorum*. Zastosowane zostały dwie metody: z zastosowaniem indykatora kwasowości oraz przy pomocy chromatografii cieczowej HPLC. Autor przeprowadził badania laboratoryjne nad wpływem wybranych fungicydów na wzrost liniowy grzybni 9 izolatów patogena. Szkoda, że Doktorant nie podał autorów metody „zatrutych podłoży” Kowalika i Krechniaka z 1961 r., oraz nie przeliczał stężeń na fungicydy a tylko na substancje aktywne. Zgodnie z aktualnie przyjętymi standardami przyjęte jest testowanie konkretnych środków ochrony roślin, a nie tylko zawartych w nich substancji aktywnych, wynika to z różnych formułacji preparatów, a zwłaszcza substancji pomocniczych, które mogą zawierać nośniki, rozpuszczalniki, sejfniery, synergetyki czy adiuwanty. Substancje pomocnicze mogą oddziaływać synergistycznie na substancje aktywne, przez co mogą być różnice w oddziaływaniu poszczególnych preparatów, które zawierają te same substancje aktywne w tym samym stężeniu. Niestety szybkie zmiany w doborze środków ochrony roślin dostępnych do stosowania w danym roku jest przyczyną, że niektóre wybrane do testu środki są aktualnie niedostępne. Iprodion wycofano do użycia w ochronie roślin w 2018 r., chlorotalonil został wycofany w 2019 r., bupirymat nie ma obecnie rejestracji w ochronie warzyw korzeniowych, trifloksystrobina niedługo będzie wycofywana z rynku. Dlatego tego typu testy wymagają aktualizacji, zgodnie z doбором preparatów aktualnie dostępnych w ochronie roślin. Podczas badań z wykorzystaniem metody szeregów biotycznych testowano wpływ pożytecznego grzyba *Trichoderma harzianum* na rozwój testowanych 9 izolatów patogena. Z tym zagadnieniem wiąże się pytanie, czy nie można było przetestować większej ilości pożytecznych mikroorganizmów, wnioskowanie byłoby wtedy pełniejsze. Podsumowaniem doświadczeń były testy wykonane w fitotronie. Oceniano patogeniczność 9 izolatów *S. sclerotiorum* na korzeniach uszkodzonych i nieuszkodzonych marchwi, a także szacowano patogeniczność sprawcy zgnilizny twardzikowej dla siewek marchwi. Przyjęte metody statystyczne opracowania uzyskanych wyników nie budzą zastrzeżeń.

Uwagi do rozdziału:

Trzeba uzupełnić opis doświadczenia „zatrutych podłoży” podając autorów Kowalika i Krechniaka (1961) i umieścić w spisie literatury.

Pan mgr inż. Marcin Wieczyński w swoich badaniach podjął się ważnych badań w sprawie możliwości przetrwania i przetrwania w środowisku. Autor, bardzo szczegółowo, syntetycznie przedstawił i omówił wyniki uzyskane z liczących badań, które zamieścił w 22 tabelach oraz 20 rycinach. Tabele i ryciny pomimo, że zawierają bardzo dużo danych opracowano przejrzysto i czytelnie przez co są łatwe do interpretacji. Ponadto omówienie wyników jest ułatwione poprzez zwięzłe opisy w tekście. Przeprowadzone obliczenia statystyczne w większości uwiarygodniają rezultaty badań oraz dodatkowo ułatwiają ich interpretację. Czasem niestety omiły literowe, czy interpunkcyjne mogą nie ułatwiać odbioru treści zapisanego tekstu.

Podczas przynależności, posłużyły do dalszych badań laboratoryjnych i w fitotronie. Podczas doświadczeń nad wpływem temperatury na wzrost liniowy testowanych izolatów patogena uprawnych. Prawidłowo Autor potwierdził wstępnie identyfikację grzyba metodami biologii molekularnej, w tym przypadku SCAR PCR. Uzyskane izolaty, o potwierdzonej agrotaga z różnych dzikorosnących roślin, czasem sąsiadujących z plantacją roślin różnych roślin, w tym z chwastów. Jest to uzasadnione możliwością przenoszenia i źródeł polifagicznym grzybie. W pierwszym etapie Doktorant wyosobnił 62 izolaty patogena z doświadczeń poszerzających naszą wiedzę o bardzo powszechnym i szkodliwym patogena z różnych roślin, czasem sąsiadujących z plantacją roślin uprawnych. Autor wyznaczył optymalną temperaturę 22,2 °C dla wzrostu grzybnii *S. sclerotiorum*. Wyznaczono również optymalną temperaturę 15,7 °C dla wytworzenia największej ilości sklerocjów. Podczas kolejnych badań nad określeniem zdolności wytwarzania kwasu szczawowego przez 62 testowane izolaty patogena wykazano znaczne różnicowanie pomiędzy izolatami zarówno podczas stosowania indykatora kwasowości jak i z wykorzystaniem chromatografii cieczowej HPLC. Do dalszych doświadczeń wtypowano 9 izolatów wyosobnionych z różnych roślin. W trakcie doświadczeń nad wpływem wybranych fungicydów na wzrost grzybnii 9 izolatów *S. sclerotiorum* testowano 9 fungicydów, zarówno jednoskładnikowych, jak i kombinowanych. Niestety dłuższy okres jaki zaistniał od czasu wykonywania doświadczenia do momentu druku niniejszej monografii spowodował, że niektóre preparaty nie mają aktualnie zastosowania w ochronie warzyw korzeniowych. Niektóre z testowanych substancji aktywnej zostały całkowicie wycofane do stosowania na terenie UE. Szczegóły przedstawiam wcześniejszej podczas omawiania rozdziału Materiał i metody. Wyniki „testu zatrutych podłoży” wskazują na dużą skuteczność większości badanych preparatów w ograniczaniu testowanych izolatów *S. sclerotiorum*, za wyjątkiem

Wyniki

Brak w spisie literatury 3 pozycji literatury, wymienionych na s. 28; Sallam i wsp. 2009; Sallam i wsp. 2019 oraz na s. 29; Górski i wsp. 2014 (opis tabeli 2).

środka Nimrod 250 EC (bupirymat), który nawet w najniższym stężeniu stymulował rozwój mycelium niektórych izolatów grzyba. Brakuje szczegółowego opisu ryciny 12, wykresu skuteczności zastosowanych preparatów dla 9 izolatów patogena, trzeba dodać, że są tu zawarte średnie dla wszystkich preparatów. Umieszczone w tabelach 13-15 wyniki są bardziej precyzyjne, podają wyniki skuteczności dla każdego izolatu grzyba i dla każdego środka osobno, tab. 13 dla stężenia 1 ppm, tab. 14 dla 5 ppm, a w tab. 15 dla stężenia 10 ppm. Te same uwagi można odnieść do ryc. 13 i tabel 16-18 przedstawiające wyniki analiz wpływu wybranych fungicydów na ograniczanie wytwarzania sklerocjów przez badanego grzyba. W podpisach tab. 13-18 lub w omówieniu wyników należałoby przedstawić, że zastosowano analizę statystyczną jednoczynnikową osobno dla każdego środka. Preparaty w najniższym stężeniu najslabiej oddziaływały na ograniczanie wytwarzania sklerot przez testowane izolaty patogena, niektóre wręcz stymulowały formowanie sklerot wśród niektórych badanych izolatów. W najwyższym stężeniu Amistar Opti 480 SC, Signum 33 WG, Gwarant 500 SC oraz Luna Experience 400 SC osiągały 100 lub prawie 100 % skuteczność wobec wszystkich badanych izolatów. Wyraźnie słabiej oddziaływał Scorpion 325 SC, a Zato 50 WG wręcz stymulował niektóre izolaty grzyba do produkcji sklerot. Podczas metody szeregów biotycznych Autor wykazał, że użyty do testów izolat *Trichoderma harzianum* hamował wzrost grzybni na tym samym poziomie badanych izolatów patogena - w zakresie 52,2 do 59,7%, a indywidualny efekt biotyczny wynosił od 7 do 8.

Wyniki badań w fitotronie nad oceną patogeniczności 9 izolatów *S. sclerotiorum* przedstawiono w tab. 20 i ryc. 16 i 17 dla korzeni nieuszkodzonych, a w tab. 21 oraz ryc. 18 i 19 dla korzeni z nakłuciem. Nie uwzględniono metody inokulacji w opisie zarówno tabel jak i rycin, czy dane dotyczą inokulacji korzeni nieuszkodzonych czy z nakłuciem. W podpisie tabel powinno być uszczegółowienie, że zastosowano analizę statystyczną jednoczynnikową, osobno dla każdej testowanej odmiany marchwi. W podpisie rycin powinno być podane, że są to wartości średnie odpowiednio dla izolatów patogena czy dla odmian marchwi. Podczas tych badań stwierdzono, że sposób inokulacji korzeni marchwi nie ma istotnego wpływu na patogeniczność testowanych izolatów grzyba. Przy inokulacji nieuszkodzonych korzeni marchwi najmniej wrażliwe na infekcje były korzenie odmian Flakesse2 i Darina, najmniejszą zdolność chorobotwórczą wykazały izolaty wyosobnione z pietruszki P21 i P1. Podczas badań nad inokulacją korzeni nakłutych stwierdzono, że najmniej podatną odmianą była Sclara, a najbardziej Berlicum 2. Największą zdolność chorobotwórczą wykazał izolat *S. sclerotiorum* wyosobniony z rzepaku M5RZE. Rezultaty oceny patogeniczności 9 izolatów patogena zamieszczono w tabeli 23 oraz rycinach 22-26. Doktorant stwierdził, że porażenie

Dyskusja Pan mgr inż. Marcin Wieczyński przez właściwie dobraną literaturę przeprowadził poprawną analizę i interpretację uzyskanych wyników własnych, a przy braku takich danych posilkował się wynikami uzyskanymi przez innych autorów także na innych gatunkach roślin. Doktorant porównał swoje wyniki dotyczące charakterystyki 62 izolatów *Sclerotinia sclerotiorum* z informacjami uzyskanymi z publikacji innych badaczy. W pracy po przeprowadzonych doświadczeniach wykazał, że optymalna średnia temperatura dla wzrostu grzybní testowanych izolatów wynosiła 22,2 °C, a dla formowania sklerocjów 20 °C, wartości te były podobne w nawiązaniu do informacji zawartych w przytoczonych publikacjach innych autorów. Kolejnym zagadnieniem, które poruszył Doktorant było określenie zdolności do wytwarzania kwasu szczawowego przez testowane izolaty, oraz rola tego związku w procesie infekcji. Zgodnie z przedstawionymi informacjami z różnych źródeł literaturowych Autor podaje informacje o doniosłej roli kwasu szczawowego przed i podczas procesu infekcji. Wytwarzanie kwasu szczawowego przez patogena może decydować o patogeniczności danego izolatu, jednak trzeba pamiętać o tym, że nie tylko ten związek może wpływać na wirulencję, ale także inne czynniki i związki. Pan mgr inż. Marcin Wieczyński słusznie użył dwie metody oznaczania poziomu wytwarzania kwasu szczawowego przez testowane

Uwagi do rozdziału:
Została zaburzona kolejność podrozdziałów dotyczących badań nad zdolnością do wytwarzania kwasu szczawowego przez *S. sclerotiorum*. Najpierw zostały przedstawione wyniki z użyciem indykatora kwasowości, a następnie rezultaty uzyskane z analiz z wykorzystaniem chromatografii cieczowej HPLC. W rozdziale Materiał i metody te badania zostały opisane w odwrotnej kolejności. W tabeli 7 w nagłówku błędnie podano jednostkę „średniej średnicy przebarwień – jest [mm²] a ma być [mm]. Na stronie 44 dwukrotnie podano „przekreconą” nazwę substancji aktywnej fungicydu Nimrod 250 EC – bupirymrat zamiast bupirymat. Tabela 20 i 21 mają identyczne tytuły, podobnie z rycinami 16 i 17 oraz 19 i 20 konieczne jest uściślenie tytułów, w pierwszej tabeli i rycinach trzeba uzupełnić, że dotyczy inokulacji korzeni bez naktucia, w drugim przypadku - inokulacja z naktuciem.

podrozdziału jest zbyt lakoniczny, powinien być szczegółowej omówiony.
korzeni i siewek nie wykazała istotnego powiązania pomiędzy tymi cechami. Jednak opis tego pomiędzy cechami morfologicznymi izolatów *S. sclerotiorum* a ich patogenicznością wobec Najbardziej podane na infekcje były siewki odmian Sclara i Flakkese 2. Analiza korelacji marchwi (602 MAR) a najmniejszą izolaty wyosobnione ze słonecznika i ostrożeń. było zróżnicowane, największą śmiertelność powodował izolat patogena pozyskany z

izolaty patogena. Pozwoliło to prawidłowo zróżnicować poszczególne izolaty, celem wyboru ich mniejszej ilości – 9 do dalszych badań. Doktorant stwierdził, że jednak metoda oznaczania ma wpływ na dokładność wyników testów, zaznaczając, że wyniki uzyskane z wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC są bardziej wiarygodne niż uzyskane w metodzie z zastosowaniem indykatora kwasowości. Może być to spowodowane przez to, że indykator uwzględnia pH środowiska oraz wszystkie kwasy organiczne, które może wytworzyć grzyb, nie tylko sam kwas szczawiowy. Stwierdzenie to Autor omówił i potwierdził z danymi przedstawionymi przez innych, cytowanych badaczy.

Trochę niekonsekwentnie Doktorant kolejno omówił wyniki doświadczeń nad inokulacjami korzeni i siewek 7 odmian marchwi testowanymi 9 izolatami patogena w fitotronie. Zgodnie z kolejnością przedstawionych doświadczeń wynikałoby, że kolejnym etapem był „test zatrutych podłoży”. Uzyskane w testach patogeniczności wyniki Doktorant prawidłowo zestawiał i omówił z rezultatami innych badaczy we wcześniejszych doświadczeniach. Autor zauważył, że istnieją różnice między odmianami w podatności na infekcje *S. sclerotiorum*, słusznie stwierdził, że nie zawsze wyniki można jednoznacznie zinterpretować, czasami opisowa charakterystyka odmian nie do końca odpowiada rzeczywistości. Na to zróżnicowanie w podatności na infekcje mogły wpływać różne izolaty grzyba, badania wykazały, że różniły się istotnie w zdolności do wywołania zmian chorobowych na korzeniach. Następnie Doktorant właściwie omówił wyniki patogeniczności testowanych izolatów grzyba dla siewek 7 odmian marchwi, przedstawiając opracowania krajowe i zagraniczne poruszające to zagadnienie. Kolejno Autor omówił wyniki analiz statystycznych z wykorzystaniem korelacji między zmiennymi cechami izolatów patogena a patogenicznością wobec korzeni uszkodzonych i nieuszkodzonych marchwi, jak i siewek marchwi. Nie wykazano korelacji istotnych statystycznie pomiędzy cechami morfologicznymi izolatów *S. sclerotiorum* a patogenicznością wobec marchwi, co potwierdzały wyniki innych badaczy zacytowanych przez Doktoranta.

W testach nad fungicydami Autor dopiero w dyskusji podał, że dobór 9 środków chemicznych był dokonany w 2016 r., ta informacja powinna być w rozdziale Materiał i metody. Szkoda, że nie wykonano tych badań w późniejszych latach, wyniki byłyby bardziej aktualne, z doborem dostępnych fungicydów. Od tamtej pory wiele substancji aktywnych zostało wycofanych z użycia, problem ten omówiono wcześniej. Uzyskane wyniki z „testu zatrutych podłoży” skuteczności poszczególnych preparatów jak i ich wpływ na ograniczanie wytwarzania sklerocjów przez *S. sclerotiorum* Doktorant właściwie omówił z rezultatami badań wykonywanych przez innych autorów. Omawiając ochronę biologiczną marchwi przed

formacie każdej pozycji, czasami rok wydania jest ujęty w nawias, nazwy czasopism są utrudnia sprawne korzystanie z tej listy. Również zauważyć można niekonsekwencje w zdjęcia. W spisie literatury zdarzają się omyłki w kolejności alfabetycznej autorów, co wykaz środków ochrony roślin zarejestrowanych w Polsce; s. 24 – opis ryżu 5, źródło rozdziału. Nie wykazano także dwóch pozycji internetowych, cytowanych w tekście: s. 20 – literatury, szczegółowy wykaz przedstawiono w uwagach pod omówieniami każdego odnotować brak w spisie ok. 17 pozycji, które są wymienionych w tekście ale nie w spisie polską literaturę wymienioną w 171 pozycjach oraz 1 stronie internetowej. Niestety można

Literatura Doktorant umiejętnie wykorzystał dobraną obszerną angielską i

obecnej wersji ten punkt jest zbyt rozbudowany i przez to mało przejrzysty.

Proponuję rozdzielenie poszczególnych stwierdzeń w punkcie 10 może na 2 lub 3 punkty. W obecnej wersji wynika, że „Płynny pohodowane ... wytwarzały kwas szczawowy...”. Przez producentów innych gatunków roślin. Zalecałbym przerebadowanie punktu 3, w zarówno dla fitopatologów, jak i producentów marchwi, które mogą być także wykorzystane podsumowuje przeprowadzone przez siebie badania, które mogą stanowić istotne wskazówki

Wnioski W zamieszczonych 12 punktach Doktorant w sposób zwięzły i syntetyczny

s. 77 Zhang i wsp. 2016, Geraldine i wsp. 2013.

- Price i Colhoun 1975; s. 70 – Pratt i Rowe 1995, Kull i wsp. 2004; s. 76 Trojan i wsp. 2014; wsp. 2018; s. 68 i s. 70 – Mo i wsp. 2007, Starzycka i Starzycki 2011, El-Agrawy 2012; s. 69

Braki w spisie literatury pozycji wymienionych w tekście: s. 66 - Liangsheng Xu i literatury jest: Smolińska i Kowalska 2018.

wsp. 2003, chyba ma być Kora i wsp. 2003; s. 77 jest Smolińska i wsp. 2016, w spisie 2003; s. 70 jest Robak i wsp. 2007, powinno być: Robak i Adamicki 2007; s. 74 jest Cora i

Błędy w cytowaniu literatury: s. 68 i s. 69 jest Starzycka i wsp. 2002, w spisie jest rok

Uwagi do rozdziału:

omawianego patogena.

badaniach większą ilość pozytywnych mikroorganizmów, które mogłyby ograniczać rozwój podatnych na infekcje sprawy zgnilizny twardzikowej. Warto było uwzględnić w tych ograniczający rozwój patogena w rejonach uprawy warzyw i roślin przemysłowych Contans WG, obecnie nazwany Lalstop Contans WG, od dłuższego czasu skutecznie nadpaszycie sklerot grzybów rodzaju *Sclerotinia*. W Polsce zarejestrowany był preparat Szczególną rolę odgrywają preparaty biologiczne oparte na grzybie *Contothyrium minimum*, tylko zawierające grzyby rodzaju *Trichoderma* ale także także bakterie i inne grzyby. zgnilzną twardzikową Autor przedstawił, za innymi badaczami, preparaty biologiczne nie

podawane skrótowo, czasem są zamieszczone pełne nazwy. Strony podawane są najczęściej po dwukropku, czasem po przecinku. W spisie literatury jest 12 pozycji, które nie były cytowane w tekście pracy: Billon-Grand i wsp. 2012; Boland i Hall 1994; Foster i wsp. 2011; Guimaraes i Stotz 2004; Hancoc 1966; Liang i wsp. 2015; Lumsden 1976; Molly i wsp. 2004; Rana i wsp. 2022; Sharma i wsp. 2015; Sobolewski i wsp. 2006 oraz Xu i wsp. 2018.

Zamieszczone w recenzji uwagi nie umniejszają wartości przedstawionej do recenzji pracy. Proponuję, aby Autor rozważył je przy przygotowywaniu prac naukowych z tego zagadnienia do druku.

Za istotne osiągnięcia mgr inż. Marcina Wieczyńskiego można uważać wyosobnienie 62 izolatów patogena z różnych roślin, w tym z chwastów, które również odgrywają istotną rolę stanowiąc źródło i biorąc udział w przenoszeniu agrofaga na plantacje roślin uprawnych. Potwierdzenie identyfikacji mikroskopowej grzyba metodami biologii molekularnej, w tym przypadku SCAR PCR. Wyznaczenie optymalnej temperatury 22,2 °C dla wzrostu grzybni *S. sclerotiorum*, a 15,7 °C dla wytworzenia największej ilości sklerocjów w trakcie doświadczeń nad wpływem temperatury na wzrost liniowy testowanych izolatów patogena. Wykazanie znacznego zróżnicowania pomiędzy izolatami w zdolności wytwarzania kwasu szczawiowego przez 62 testowane izolaty patogena, przy zastosowaniu indykatora kwasowości jak i z wykorzystaniem chromatografii cieczowej HPLC. Druga metoda okazała się dokładniejsza i bardziej wiarygodna w oznaczaniu tego parametru. W trakcie „testu zatrutych podłoży” stwierdzenie dużej skuteczności większości badanych preparatów w ograniczaniu wzrostu testowanych izolatów *S. sclerotiorum*, za wyjątkiem środka Nimrod 250 EC (bupirymat), Istotne znaczenie miało stężenie, preparaty w najniższym stężeniu najslabiej oddziaływały na ograniczanie wzrostu grzybni jak i wytwarzania sklerot przez sprawdzane izolaty patogena. Wykazanie podczas metody szeregów biotycznych, że testowany izolat *Trichoderma harzianum* hamował wzrost grzybni na tym samym poziomie u wszystkich badanych izolatów patogena. Stwierdzenie podczas badań w fitotronie nad oceną patogeniczności 9 izolatów *S. sclerotiorum*, że sposób inokulacji korzeni 7 odmian marchwi nie ma istotnego wpływu na patogeniczność testowanych izolatów grzyba. Określenie podatności odmian marchwi na inokulację grzybnią patogena. Przy inokulacji nieuszkodzonych korzeni marchwi najmniej wrażliwe na infekcje były korzenie odmian Flakesse2 i Darina, a korzeni nakłutych najmniej podatną odmianą była Sclara, a najbardziej Berlicum 2. Największą zdolność chorobotwórczą wykazał izolat *S. sclerotiorum* wyosobniony z rzepaku M5RZE a najmniejszą izolaty pozyskane z pietruszki P21 i P1. Stwierdzenie, podczas testów patogeniczności 9 izolatów patogena na siewkach 7 odmian

rolnictwo i ogrodnictwo.
 nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie: nauki rolnicze, dyscyplinie:
 Pana mgr inż. Marcina Wieczyńskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego o
 Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie
 W tym przekonaniu stawiam wniossek skierowany do Rady Naukowej Dyscypliny

poz. 1789).

naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytuł w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r.
 kandydatom do stopnia doktora, określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach
 sprawy zginiłszy twarżdzikowej marchwi” stwierdzam, że spełnione zostały kryteria stawiane
 „Charakterystyka wybranych izolatów grzyba *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary,
 Na podstawie analizy pracy doktorskiej mgr inż. Marcina Wieczyńskiego pt.

tematów z zakresu fitopatologii oraz współpracy z naukowcami z innych dziedzin nauki.
 badań naukowych związanych z reprezentowaną przez Niego dziedziną wiedzy i realizacji
 recenzji rozprawa pozwala stwierdzić, że Doktorant jest przygotowany do wykonywania
 Marcina Wieczyńskiego spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim. Przedstawiona do
 przeglądu literatury i dyskusji. Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa mgr inż.
 polskojęzyczna jak i anglojęzyczna, która została dobrze wykorzystana przy opracowaniu
 dobrą znajomością wymieniionych dziedzin nauki opartej o prawidłowo dobraną literaturę
 biotechnologicznych. Podczas realizacji zaplanowanych doświadczeń Autor wykazał się
 pracy własnej zgodnie ze znanymi metodami badań fitopatologicznych i
 Badania Doktoranta zostały zaplanowane i wykonane prawidłowo przy dużym nakładzie
 pracą interdyscyplinarną obejmującą zagadnienia fitopatologii, biotechnologii i fizjologii.
 Pan mgr inż. Marcin Wieczyński przedstawił do oceny rozprawę doktorską która jest typową
 mogących mieć zastosowanie w praktyce upraw roślin podanych na tego groźnego polifaga.
 charakter typowej pracy oryginalnej o dużych wartościach naukowych, a jednocześnie
 zrozumienia przy interpretacji uzyskanych wyników. Przedstawiona do recenzji praca ma
 piśmiennictwa poprzez kolejne rozdziały sprawa, że jest ona przejrzysta i łatwa do
 zachowanie kolejności omawianych i realizowanych zagadnień, poczynając od przeglądu
 Oceniana praca napisana jest poprawnym językiem, a zazwyczaj prawidłowe

i Flakke 2.

ostroszenia. Określono również, że najbardziej podatne na infekcje były siewki odmian Sclara
 wysobniony z marchwi 602 MAR a najmniejszą izolaty wysobnione ze słonecznika i
 marchwi, że porażenie było zróżnicowane, największą śmiertelność powodował izolat

J. Nawrocki

Kraków, 24.10.2024 r.

dr hab. inż. Jacek Nawrocki

