

Poznań, 01.05.2021r.

Prof. dr hab. Marek Korbas

Zakład Mykologii

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Poznań

ul. Władysława Węgorka 20

60-318 Poznań

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Patrycji Joanny Olobry pt. „Występowanie i szkodliwość grzybów rodzaju *Fusarium* w uprawach cebuli zwyczajnej (*Allium cepa* L.)”.

1. Podstawa opracowania recenzji

Przedmiotem recenzji jest praca doktorska mgr inż. Patrycji Joanny Olobry, napisana na Wydziale Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Promotorem rozprawy jest dr hab. Tomasz Kosiada.

Podstawą formalną jest pismo z dnia 18 marca 2021r. (RNDRiO – 14/4000/2021) prof. dr hab. Andrzeja Blecharczyka – Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo UP w Poznaniu, powierzające mi wykonanie oceny niniejszej rozprawy doktorskiej.

2. Ocena tematyki badawczej

Podjęta przez Autorkę problematyka badawcza, w przedstawionej do recenzji pracy jest bardzo aktualna i potrzebna, ponieważ w Polsce uprawa cebuli zwyczajnej ma duże znaczenie. Gatunek tego warzywa gruntownego uprawiany jest na powierzchni 25 tys. ha, a zbiory cebuli zwyczajnej przekraczają 0,5 mln ton. Niestety jest to roślina, która podatna na

porażanie przez wielu sprawców chorób. Dużą grupę patogenów cebuli stanowią grzyby, na których porażanie podatna jest cebula zwyczajna. Na odmianach cebuli zwyczajnej uprawianych w naszym kraju znaczenie mają przykładowo takie choroby wywoływane przez grzyby jak: zgnilizna szyjki cebuli (*Botrytis aclada* Fresen. i *B. alli* Munn), głownia cebuli (*Urocystis cepulae* Frost), biała zgnilizna cebuli (*Sclerotinia cepivorum*), alternarioza cebuli (*Alternaria porri*, *A. alternata*), antraknoza cebuli (*Colletotrichum circinans*). Na dużą uwagę zasługuje fuzaryjna zgnilizna cebuli (*Fusarium* spp.). Gatunki rodzaju *Fusarium* powszechnie występują w agrocenozach, gdzie bytują jako saprotrofy w glebie, ale często spotykane są na różnych częściach podziemnych i nadziemnych roślin. Znaczenie występowania, co najmniej kilku gatunków rodzaju *Fusarium* wyraźnie wzrasta.

Problem zasiedlania przez przykładowo gatunki takie jak: *F. oxysporum* (Schltdl), *F. culmorum* (Wm.G.Sm), *F. avenaceum* (Fr. Sacc), *F. acuminatum* (Eblis i Everh.), *F. solani* (Mart.), *F. subglutinans* (Wollenw i Reinking), *F. proliferatum* (Matsush.) itp. cebuli rosnącej w czasie wegetacji w polu i w trakcie jej przechowywania znacząco przyczynia się do strat, które ponoszą producenci cebuli.

Cebula zwyczajna to ważne i niezbędne warzywo w diecie ludzi. Gatunek ten ceniony jest ze względu na wiele właściwości zdrowotnych. Z powodu obecności witaminy B6, która korzystnie działa na pracę serca, zmniejsza ryzyko zawałów i udarów mózgu, używana może być w leczeniu cukrzycy, ponieważ jej spożywanie obniża poziom glukozy i insuliny. Szerokie oddziaływanie lecznicze cebuli spowodowało, że jako surowiec znalazła ona zastosowanie w farmacji. Posiada również walory kulinarne z tego powodu często stosowana jest w gospodarstwach domowych. O wielu możliwościach stosowania cebuli pisze w rozprawie Doktorantka. Podjęty temat wpisuje się w aktualną strategię Unii Europejskiej – „Zielonego Ładu”, a dokładniej „Od pola do stołu”. Dbłość o stan zdrowotny cebuli, to jeden z elementów, który realizowany jest w ramach powyższych strategii.

Problem występowania i szkodliwości grzybów, a szczególnie rodzaju *Fusarium* w uprawie cebuli zwyczajnej to wyjście naprzeciw potrzebom zgłaszanym przez producentów uprawiających cebulą. Wyprodukowana cebula powinna być wolna od obecności patogenów, a w szczególności od tych, które obniżają plon i jego jakość. W przypadku grzybów rodzaju *Fusarium* ważne jest też to, że wiele gatunków tego rodzaju może produkować metabolity wtórne, które określa się jako mykotoksyny. Są to związki chemiczne toksyczne i niebezpieczne dla organizmów stałocieplnych. Mają wpływ na zdrowie ludzi i zwierząt. Zrealizowana z dużym powodzeniem tematyka doktoratu dotycząca chemicznych i biologicznych możliwości ograniczania grzybów rodzaju *Fusarium* zebranych dla celów

badań jest wkładem do realizowanej ochrony cebuli przed porażeniem przez różne gatunki *Fusarium*. Dzięki temu uzyskać można cebulę wolną od sprawców fuzaryjnej zgnilizny cebuli, a tym samym od obecności mykotoksyn w cebuli sprzedawanej bezpośrednio po zbiorze, jak też przechowywanej w celu późniejszej sprzedaży dla przetwórstwa.

W literaturze tematyka dotycząca chorób roślin porażanych przez gatunki grzybów rodzaju *Fusarium* jest często omawiana, ale w odniesieniu do cebuli zwyczajnej szczegółowo opisujących ten problem jest niewiele. Zagadnienie przedstawione w rozprawie jest ambitne i trudne, ale Doktorantka znakomicie sobie dała radę i osiągnęła założony cel pracy.

3. Ocena formalnej strony pracy

Przedstawiona rozprawa doktorska Pani mgr inż. Patrycji Joanny Olobry jest opracowaniem monograficznym. Praca zawiera 165 stron i składa się z 12 rozdziałów, 10 podrozdziałów i 24 podrozdziałów niższych rzędów. Podział jest drobiazgowy, ale przejrzysty i spójny. Wszystkie rozdziały mają właściwe propozycje. Cel pracy mówi o głównym założeniu rozprawy, ale obejmuje też 6 celów szczegółowych. W rozdziale tym określono hipotezę roboczą, która została zrealizowana i potwierdzona w ocenianej pracy.

Przegląd literatury przedstawiony na 24 stronach jest obszerny i przywołuje pozycje literaturowe wydane głównie po roku 2000, ale nie brakuje cytowań pozycji literaturowych opublikowanych w latach 2012-2019. Rozdział ten wzbogacony jest przez 24 fotografie wykonane przez autorkę i zawiera jedną tabelę z przykładami mykotoksyn, które mogą być produkowane głównie przez gatunki rodzaju *Fusarium*.

Szczegółowo przedstawiono rozdział: Materiał i metody. Na 19 stronach zawarto metody w sposób, który może być potwierdzony przez osoby zainteresowane w celu ewentualnej weryfikacji uzyskanych wyników. Do ważnych podrozdziałów w tym rozdziale zaliczyć należy podrozdziały 4.1. – „Pozyskiwanie materiału do badań” i 4.3. – „Ocena patogeniczności grzybów rodzaju *Fusarium*...” oraz podpodrozdziały 4.2.1. – „Izolacja DNA”, 4.2.4. – „Identyfikacja molekularna”.

Ważny i istotnym rozdziałem jest rozdział 5 „Wyniki”, w którym na 45 stronach szczegółowo i logicznie przedstawione zostały wyniki w formie opisowej. Analizę przedstawionych wyników ułatwiają liczne ryciny – wykresy, dendrogramy przedstawiające zmienność genetyczną wygenerowanych izolatów *Fusarium* w oparciu o PCR. W tabeli 11 wykonano zestawienie dotyczące zebranych izolatów. W rozdziale tym szeroko przedstawiono

wielkość zmian na liściach cebuli inokulowanej różnymi gatunkami *Fusarium* i hamowanie wzrostu izolatów różnych gatunków rodzaju *Fusarium* po zastosowaniu fungicydów. Wyniki te przedstawiono w tabelach, na wykresach i barwnych fotografiach. Wizualizacja niekiedy trudnych do interpretacji wyników jest bardzo pomocna przy studiowaniu uzyskanych przez Doktorantkę wyników.

W rozdziale 6 „Dyskusja” Autorka rozprawy doktorskiej wykorzystała najnowsze opublikowane prace przeważnie z lat 2009-2020, aby uzyskać potwierdzenie uzyskanych wyników lub w celu stwierdzenia i wyjaśnienia uzyskanych wyników, które niekorespondują z wynikami innych autorów.

Wiadomo, że w obrębie rodzaju *Fusarium*, gdy stosuje się tradycyjne metody oznaczania gatunku można popełnić błąd i wykonać nieprawidłową – fałszywą identyfikację. Dzięki przeprowadzonej trój etapowej identyfikacji pozyskanych z cebuli zwyczajnej izolatów z dużą dokładnością zidentyfikowano 10 gatunków rodzaju *Fusarium*. Dominującym gatunkiem był grzyb *Fusarium oxysporum*. Potwierdzono to molekularnie weryfikując wstępną klasyfikację wykonaną makroskopowo i mikroskopowo. W przypadku tym z dużą znajomością wykonano weryfikację na podstawie obecności sekwencji charakterystycznych dla gatunków (SCAR-PCR) oraz analizy sekwencji genu czynnika elongacji translacji 1 α (TEF). Autorka potwierdziła występowanie wielu gatunków *Fusarium* na cebuli i wskazała na dominację gatunku *F. oxysporum*, co jest zgodne z wynikami innych autorów zagranicznych opublikowanych w ostatnich latach. Ciekawe i nowatorskie w Polsce było przeprowadzenie badań obecności grzybów rodzaju *Fusarium* w glebie na obszarach, gdzie uprawia się cebulę. Takie badania prowadzono w przeszłości w latach 50 ubiegłego wieku, a do tej pory nieznane było obecne występowanie tych grzybów w glebie uprawianej rolniczo. Wyniki badań pozwalają na stwierdzenie, że grzyby rodzaju *Fusarium* aktualnie są powszechne, co negatywnie wpływa na stan fitosanitarny użytkowanych gruntów ornych, a dawniej grzyby te stwierdzano tylko w 9% analizowanych próbek. Badając i analizując otrzymanie sekwencji genu TEF nie zajmowano się identyfikacją formy specjalnej i patrząc z mojego punktu widzenia jest to dyskusyjne i mało użyteczne.

Wyniki badań dotyczące otrzymanych sekwencji TEF wskazują na to, że gen czynnika elongacji translacji nie jest odpowiednim narzędziem do ich rozróżniania. Problem ten lepiej rozwiązać stosując mikromacierze DNA. Myślę, że w dużej ilości już wykonanych badań identyfikacyjnych nie było to możliwe do przeprowadzenia z powodu chociażby braku czasu. Badania właśnie przeprowadzone w warunkach polowych wskazują na niewielkie zróżnicowanie wrażliwości odmian cebuli zwyczajnej na inokulacje grzybami *Fusarium* spp.

Nie znaleziono odmiany całkowicie odpornej na porażenie przez sprawcę fuzaryjnej zgnilizny cebuli.

Dyskusja przedstawiona w doktoracie jest wielokierunkowa i wszechstronna. Odniesienia uzyskanych wyników w porównaniu z rezultatami badań przeprowadzonych przez innych autorów są odpowiednie i proporcjonalne. Dotyczy to stwierdzenie wszystkich badań już tych omówionych wcześniej i też tych, które dotyczyły przykładowo zróżnicowania w ramach typów płciowych izolatów gat. rodzaju *Fusarium* MAT-2 i MAT-1, czy rekomendacji metody biologicznej przeprowadzonej przy zastosowaniu gatunków rodzaju *Trichoderma* do ograniczania wzrostu wybranych izolatów *Fusarium* i porównanie oddziaływania gatunków *Trichoderma* na *Fusarium* spp. w porównaniu do chemicznych substancji czynnych.

Wyniki badań Pani mgr inż. Patrycji Joanny Olobry pozwoliły na to, aby można było sformułować 13 wniosków, które w większości w mojej opinii są stwierdzeniami dotyczącymi najważniejszych wyników badań. Lepszym rozwiązaniem w tym rozdziale byłoby krótkie generalizowanie uzyskanych wyników. W niektórych pracach zamiast tytułu rozdziału „Wnioski” używa się „Podsumowanie”, jako tytuł rozdziału. W przypadku tej rozprawy proponuję takie rozwiązanie, bo będzie ono oddawało ducha treści zastosowanych sformułowań. Godne pochwalenia są też rozdziały techniczne: Spis rycin i Spis tabeli, ponieważ w dużym stopniu pomocne są w łatwej lokalizacji zamieszczonych danych i wyników zawartych w tej rozległej 165 stronicowej monografii.

W rozdziale 10 „Literatura” Doktorantka Pani mgr inż. Patrycja Joanna Olobry zamieściła bardzo bogatą literaturę dotyczącą przedmiotu badań. Starannie dobrano 164 pozycje literaturowe i wzbogacone one zostały przez informacje ze stron internetowych w liczbie 6 https lub http z roku 2020.

Podsumowanie i wniosek końcowy.

Zagadnienie zawarte w rozprawie doktorskiej są bardzo interesujące i mają charakter naukowy i użyteczny. Za najważniejsze osiągnięcie wynikające z przeprowadzonych badań należy uznać:

- określenie składu gatunkowego grzybów rodzaju *Fusarium* zasiedlających cebulę zwyczajną i wskazanie *Fusarium oxysporum*, jako gatunku dominującego dzięki zastosowanej trój etapowej identyfikacji izolatów;

- określenie z użyciem metody URP PCR zróżnicowania genetycznego między- i wewnątrzgatunkową analizę typów płciowych badanych patogenów oznaczonych, jako MAT-1 (z domeną ALPHA) i MAT-2 (domeną HMG);
- określenie patogeniczności głównego sprawcy choroby *F. oxysporum* w porównaniu do pozostałych wyizolowanych gatunków rodz. *Fusarium*;
- poznanie wpływu *F. oxysporum* (izolat z cebuli) na wschody cebuli zwyczajnej;
- określenie wpływu temperatury w dzień i w nocy na wschody roślin porażonych izolatami *Fusarium* z cebuli;
- określenie hamowania wzrostu izolatów *Fusarium in vitro* przez substancje czynne zawarte w fungicydach;
- określenie roli i znaczenia grzybów rodzaju *Trichoderma* w ograniczaniu wzrostu grzybni izolatów *Fusarium*.

Zaletą pracy jest jej doskonałość pod względem językowym i edytorskim. W pracy występuje zaledwie kilka pojedynczych drobnych niedociągnięć edytorskich. Jedyne uwagi, jakie można sformułować to przedstawienie wniosków i brak numeracji pozycji literaturowych.

Rozprawa doktorska mgr inż. Patrycji Joanny Olobry stanowi oryginalny dorobek naukowy. Wnosi dużą wiedzę i nowe elementy poznawcze do zagadnień dotyczących występowania i szkodliwości grzybów rodzaju *Fusarium* w uprawach cebuli zwyczajnej.

Wyniki, które uzyskała doktorantka w ocenianej rozprawie stanowią cenną informację dla badających zdrowotność cebuli i są przydatne dla producentów tego gatunku i firm hodowlanych. Praca jest bardzo dobrze przygotowana pod względem metodycznym i merytorycznym i oceniam ją pozytywnie.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. „Występowanie i szkodliwość grzybów rodzaju *Fusarium* w uprawach cebuli zwyczajnej (*Allium cepa* L.) jest opracowaniem wartościowym, które wymagało od Doktorantki dużego wysiłku badawczego Pani mgr inż. Patrycji Joanny Olobry i spełnia w pełni wszystkie wymogi i kryteria stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie z dnia 14.03.2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017r. poz. 1789 z późniejszymi zmianami).

W związku z powyższym składam wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie mgr inż. Patrycję Joannę Olobry do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz wyróżnienie pracy nagrodą.



Prof. dr hab. Marek Korbas