

Warszawa, 18.06.2018 r.

Dr hab. Marta Aleksandrowicz-Trzcńska prof. SGGW
Katedra Ochrony Lasu i Ekologii
SGGW w Warszawie

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Miłosza Tkaczyka
„Rola gatunków z rodzaju *Phytophthora* w zamieraniu drzewostanów dębowych na
terenie Płyty Krotoszyńskiej”
wykonanej pod kierunkiem dr hab. Tomasza Oszako prof. IBL
oraz dr. Roberta Tomusiaka (promotor pomocniczy)**

Podstawa: Uchwała Rady Naukowej Instytutu Badawczego Leśnictwa z dnia 10 maja 2018 r.

Wprowadzenie

Zamieranie dębów jest chorobą nekającą gatunki drzew należące do tego rodzaju od blisko dwóch wieków. Pierwsze wzmianki dotyczące tej choroby pochodzą z Rosji z 1822 roku. Zarówno w Polsce jak i Europie zamieranie dębów jest poważnym problemem gospodarczym od początku lat 80. ubiegłego wieku. Za przyczynę choroby uważa się wieloczynnikowy spadek odporności.

Obecnie, łęgniowcom z rodzaju *Phytophthora* przypisuje się duży udział w przebiegu choroby zamierania dębów. Chociaż znane one były jako groźne patogeny roślin uprawnych już w XIX wieku, stały się w ostatnich 15-20 latach olbrzymim zagrożeniem również dla roślin ozdobnych, a także drzew leśnych, w różnym wieku. Obecnie wiadomo, że mamy do czynienia z inwazyjną grupą czynników chorobotwórczych, bardzo plastycznych, przystosowujących się do lokalnych warunków, zajmujących nowe nisze i poszerzających zakres swoich roślin żywicielskich. Przyszłe niebezpieczeństwo może być związane również z powstawaniem nowych gatunków *Phytophthora*. W efekcie hybrydyzacji międzygatunkowej, somatycznej fuzji lub rekombinacji genów mogą tworzyć się nowe organizmy bardziej zjadliwe niż ich rodzice.

Tak, więc podjęcie przez Doktoranta badań dotyczących roli patogenów korzeni z rodzaju *Phytophthora* w zjawisku zamierania dębów, rosnących na terenie Płyty

Krotoszyńskiej uważam za celowe i w pełni uzasadnione zarówno od strony poznawczej jak i praktycznej.

Ocena pracy

Praca doktorska mgr inż. Miłosza Tkaczyka stanowi jednolite opracowanie liczące 116 ponumerowanych stron, w tym 40 tabel i 16 rycin. Właściwy tekst, bez stron tytułowych, streszczenia, spisów: treści i literatury liczy 84 strony. Jest to typowa objętość dla prac doktorskich. Wskazuje na umiejętność zwięzłego i precyzyjnego prezentowania wyników badań naukowych oraz właściwego oceniania wagi zamieszczanych informacji.

Treść dysertacji posiada klasyczny układ tekstu dla prac przyrodniczych o charakterze eksperymentalnym. Składa się z 9 ponumerowanych rozdziałów: Wstęp, Przegląd literatury, Cel pracy, Hipotezy badawcze, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski i Piśmiennictwo oraz streszczeń w języku polskim i angielskim, spisu tabel i rycin. Trzy rozdziały: Przegląd literatury, Materiał i metody oraz Wyniki zostały trafnie z merytorycznego punktu widzenia podzielone na podrozdziały drugiego rzędu, co ułatwia studiowanie pracy. Proporcje pomiędzy poszczególnymi rozdziałami zostały właściwie wyważone.

Spis literatury zawiera 213 pozycji. Większość cytowanych prac została napisana w języku angielskim (151). Literatura polska to 29 pozycji, niemiecka – 22, francuska - 10. Jedna pozycja została napisana w języku włoskim. Około 8,5% stanowią prace najnowsze, napisane po roku 2010. Na tej podstawie można wnioskować, że Autor ma nie tylko, dobrą znajomość literatury przedmiotu, ale również dobrze poradził sobie z doбором niezwykle bogatej literatury dotyczącej zamierania dębu i patogenów z rodzaju *Phytophthora*.

Tytuł rozprawy został poprawnie sformułowany, jest zrozumiały i adekwatny do treści i zakresu pracy.

W rozdziale Wstęp doktorant krótko (niecałe 1,5 strony) wprowadza czytelnika w zagadnienie zamierania dębów, natomiast szczegółowo poznamy ten problem w pierwszym podrozdziale Przeglądu literatury noszącym tytuł "Zjawisko zamierania drzewostanów dębowych". Zdaje sobie sprawę, że przedstawienie tego zagadnienia nie było zadaniem łatwym, ponieważ literatura przedmiotu jest bardzo bogata i wielowątkowa. Na mnie rozdział ten robi wrażenie trochę chaotycznego. Autor w wielu miejscach powraca do tych samych zagadnień. Na przykład na stronie 14 czytamy „Infekcje systemów korzeniowych wywołane przez patogeny z rodzaju *Phytophthora* i w dalszej kolejności opieńki *Armillaria* spp., z reguły doprowadzają do masowego zamierania drzew.”; na stronie 16 – „Przyczyną

defoliacji... są... patogeny wywołujące ... opieńkową zgniliznę korzeni” oraz „Uszkodzenia korzeni mogą powodować między innymi lęgniowce z rodzaju *Phytophthora*.”; na stronie 17 „patogenami chętnie zasiedlającymi osłabione drzewa są opieńki, powodujące choroby systemów korzeniowych”; na stronie 18 „...biotycznym czynnikiem szkodotwórczym są również opieńki *Armillaria* spp. współuczestniczące w zamieraniu drzew...”, na stronie 19 – „Infekcje systemów korzeniowych drzew przez opieńki ... mają miejsce ... po wystąpieniu dotkliwej suszy...”.

Na początku omawianego rozdziału Doktorant podaje, że do rodzaju *Quercus* należy ponad 450 gatunków, nie popierając tego stwierdzenia żadnym cytowaniem. Według *The Plant List* w obrębie rodzaju wyróżniono 431 gatunków, 166 mieszańców międzygatunkowych, a 159 taksonów ma status gatunków niepewnych.

Na stronie 18 znajdują się dość niefortunne i przez to kontrowersyjne stwierdzenia „W sytuacji podwyższonej zawartości glukozy, uwolnione przez rośliny związki fenolowe stanowią dodatkowe źródło węgla, niezbędne dla rozwoju grzybów” i dalej „... opieńki utleniają związki fenolowe syntetyzowane w korzeniach, eliminując w ten sposób naturalne procesy obronne, chroniące przed infekcjami grzybowymi.” Związki fenolowe są toksyczne dla wszystkich żywych organizmów. Ich syntetyzowanie jest jedną z podstawowych reakcji obronnych rośliny. W komórkach roślin mogą być one utleniane (utlenianie enzymatyczne) do bardziej toksycznych chinonów, które mogą być dalej utleniane (kondensacja i utlenianie nieenzymatyczne) do jeszcze bardziej toksycznych melanin. W ten sposób w komórce roślinnej powstają związki o coraz wyższej toksyczności oraz ubywa tlenu niezbędnego dla prawidłowego funkcjonowania patogenu. Nie wiem dokładnie jaki mechanizm chciał Doktorant opisać, ale z całą pewnością nie zostało to zrobione poprawnie.

Pisząc o modelu choroby spiralnej Doktorant wymienia i charakteryzuje czynniki inicjujące, nie opisując czynników predyspozycyjnych i współuczestniczących.

Znacznie lepiej poradził sobie Autor z przedstawieniem „Znaczenia lęgniowców w procesie zamierania drzew”. Opisał zagadnienie krótko i w uporządkowany sposób. Mam tu jedną uwagę, dotyczącą systematyki. Zmiany w klasyfikacji istot żywych wiążą się z postępem w dziedzinie morfologii, fizjologii czy embriologii, ale przede wszystkim z rozwojem metod biochemicznych, w tym umożliwiających szybkie sekwencjonowanie DNA i porównywanie różnych organizmów pod względem genetycznym. Przyjmuje się bowiem, że to właśnie biochemia może dostarczyć wiele informacji o ewolucyjnej przeszłości danej grupy. Efektem ubocznym postępu wiedzy są częste i niejednokrotnie rewolucyjne zmiany w systematyce organizmów. Doktorant podaje kolejne zmiany w pozycji systematycznej

Phytophthora od 1989 do 2012 roku, wg klasyfikacji istot żywych (Biota). Obecnie ta klasyfikacja jest nieaktualna (była zmieniana w 2015 i 2017 roku). Natomiast w pozycji literatury, na którą doktorant się powołuje Beaks i in. 2012 rodzaj *Phytophthora* należy ciągle do królestwa Chromista, podobnie jak 1989 roku. W mojej ocenie „bezpieczniej” jest powoływać się na MycoBank lub Index Fungorum (co jest powszechnie stosowane zarówno w badaniach mykologicznych jak i fitopatologicznych) wg których pozycja systematyczna jest następująca: *Chromista*, *Oomycota*, *Oomycetes*, *Peronosporales* i *Phytophthora*.

W kolejnym, pół stronicowym rozdziale Autor definiuje główny cel badań, którym jest poznanie roli patogenów korzeni z rodzaju *Phytophthora* w zjawisku zamierania dębów rosnących na terenie Płyty Krotoszyńskiej. Realizacja tego celu obejmowała 4 cele cząstkowe:

1. Wykrywanie i identyfikacja patogenów z rodzaju *Phytophthora* w glebie.
2. Powiązanie występowania patogenów z rodzaju *Phytophthora* z cechami chemicznymi gleby.
3. Określenie relacji pomiędzy cechami morfologicznymi korzeni, a występowaniem patogenów z rodzaju *Phytophthora* w glebie.
4. Określenie relacji pomiędzy stanem koron drzew, a występowaniem patogenów z rodzaju *Phytophthora* w glebie.

W następnym (czwartym) rozdziale doktorant przedstawił dwie hipotezy badawcze:

1. obecność w ryzosferze patogenów z rodzaju *Phytophthora* istotnie wpływa na zdrowotność dębów szacowaną na podstawie stanu ich koron,
2. obecność w ryzosferze patogenów z rodzaju *Phytophthora* powoduje istotne uszkodzenia systemów korzeniowych dębów.

Rozdział Materiały i metody, liczący 15 stron, został podzielony na podrozdziały drugiego i trzeciego rzędu. Taka organizacja wewnętrzna tej części pracy w zasadniczy sposób ułatwia studiowanie. Z rozdziału tego dowiadujemy gdzie przeprowadzono badania, w jaki sposób wybrano drzewa do badań i jak oceniano ich kondycję zdrowotną, w jaki sposób pobierano próby glebowe i jakim analizom je następnie poddawano, w jaki sposób izolowano patogeny z rodzaju *Phytophthora* i jak je oznaczano. W mojej ocenie metody w większości zostały opisane jasno, natomiast dwie kwestie wymagają uzupełnienia. Dokładniejszego opisu wymagają metody zastosowane do oznaczania chemicznych cech gleby, oraz klasyfikacja witalności Roloffa. Z wyników badań można wywnioskować, że do oceny witalności zastosowano 3 stopniową skalę, ze stopniami 0, 1 i 2. Autor nie podaje na jakiej podstawie drzewa kwalifikowano do poszczególnych klas. Ponadto, przy tak wąskiej skali trudno było

spodziewać się różnic w wynikach badań, co rzeczywiście miało miejsce. Gdyby doktorant dostosował tę skalę do własnych badań, rozszerzając ją do 4 lub 5 stopni łatwiej byłoby wykazać różnice.

Analizy statystyczne zostały opisane bardzo dokładnie (w mojej ocenie nawet może zbyt szczegółowo). Doktorant podaje nie tylko jakie metody wykorzystano, ale również w jakich sytuacjach się je stosuje, jakie założenia muszą być spełnione itp. Taka charakterystyka metod statystycznych wskazuje, że doktorant dobrze orientuje się w tych zagadnieniach.

Rozdział Wyniki najobszerniejszy w opracowaniu, liczy 40 stron. Wielkość ta związana jest z dużym materiałem empirycznym zebrany przez Doktoranta. Wyniki zostały zaprezentowane w logicznej kolejności. Najpierw Autor charakteryzuje wyizolowane gatunki *Phytophthora*, następnie ich powiązania z cechami chemicznych gleby, cechami systemów korzeniowych dębów i stanem korony, aby zakończyć rozdział modelami prawdopodobieństwa wystąpienia poszczególnych patogenów z rodzaju *Phytophthora*. Dobrym pomysłem, ułatwiającym studiowanie tego rozdziału jest zamieszczenie specjalnej wkładki ze skrótami nazw wszystkich 15 cech korzeni.

W podrozdziale przedstawiającym modele regresji logistycznej wkraść się chaos związany z nazewnictwem cech korzeni. Pojawia się nowy skrót NoT określany jako ogólna liczba wierzchołków korzeni lub liczba zakończeń korzeni nie wiem czy jest ona tożsama z liczbą wierzchołków wszystkich korzeni czy liczbą żywych korzeni. Ponadto używane w poprzednich rozdziałach określenie „wierzchołki korzeni” zostało zastąpione „zakończenia korzeni”. Należałoby również zmienić tytuł tabeli 1. nie przedstawia ona izolatów *Phytophthora* uzyskanych z gleby tylko liczbę próbek gleby i liczbę uzyskanych izolatów. Zastąpiłabym również określenie „drzewa zdrowe” następującym „drzewa bez widocznych objawów chorobowych” lub „drzewa bez widocznych objawów osłabienia”.

Rozdział szósty Dyskusja stanowi bardzo ważną część pracy, świadczącą z jednej strony o znajomości literatury związanej z tematem rozprawy, a z drugiej pokazuje umiejętność krytycznej oceny uzyskanych wyników jako konkluzji do formułowania wniosków. Wydaje się, że gdyby Autor podzielił treść dyskusji na podrozdziały, ta część pracy byłaby łatwiejsza w odbiorze. Taki układ rozdziału nie przeszkodził jednak Autorowi w poprawnym skonfrontowaniu uzyskanych przez siebie wyników z danymi literaturowymi.

Pracę kończy jednostronicowy rozdział ósmy – Wnioski. Autor zamieścił tu 7 logicznych, dobrze skonstruowanych wniosków. Treść poszczególnych wniosków jest wynikiem przeprowadzonych badań i wskazuje na istotny, choć zróżnicowany udział patogenów z rodzaju *Phytophthora* w zjawisku zamierania dębów na Płycie Krotoszyńskiej.

Pod względem redakcyjnym praca została przygotowana starannie. Jednak Autor nie uniknął błędów literowych i usterek stylistycznych, które zaznaczyłam w manuskrypcie pracy.

Wniosek końcowy

Uważam, że praca mgr inż. Miłosza Tkaczyka, przedstawiona jako rozprawa doktorska stanowi samodzielny dorobek naukowy z zakresu leśnictwa. Doktorant poprawnie przedstawił problem badawczy, zaprojektował i zrealizował badania, wykazał się umiejętnością interpretacji otrzymanych wyników i znajomością literatury. Zrealizowanie badań świadczy o dobrym przygotowaniu teoretycznym jak również posiadaniu kwalifikacji praktycznych wymaganych do prowadzenia badań naukowych.

Przedstawione w recenzji usterki nie umniejszają merytorycznej wartości pracy i można je bez trudu usunąć, przygotowując rozprawę do druku. Samodzielnym osiągnięciem naukowym Autora jest wykazanie, że patogeny z rodzaju *Phytophthora* powodują zmiany cech morfologicznych korzeni, a gatunkiem o największym wpływie na zjawisko zamierania dębów na Płycie Krotoszyńskiej jest *P. europea*, po raz pierwszy wyizolowany na terenie Polski.

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Miłosza Tkaczyka „Rola gatunków z rodzaju *Phytophthora* w zamieraniu drzewostanów dębowych na terenie Płyty Krotoszyńskiej” spełnia wszystkie 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 wraz z późniejszymi zmianami) i wnoszę o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Alscudwiciu