

Prof. dr hab. Małgorzata Mańka, czł. koresp. PAN
Katedra Fitopatologii Leśnej
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Joanny Bonio
pt. "Micromycetes w powietrzu atmosferycznym i na liściach
roślin wrzosowatych Ericaceae w Ogrodzie Botanicznym UJ w Krakowie
i Arboretum SGGW w Rogowie"**

Recenzowana rozprawa zawiera 151 stron paginowanych, podzielonych na rozdziały (Wstęp, Przegląd literatury, Badania własne [w tym: Cel pracy, Materiał i metody], Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Literatura), z 47 tabelami i 34 rycinami.

Tytuł pracy wskazuje na szeroko zakrojone podejście do występowania zagrożeń dla zdrowia i dekoracyjnych walorów Ericaceae w dwóch ważnych obiektach dendrologicznych: Ogrodzie Botanicznym Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie i Arboretum Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Rogowie. Dla zrealizowania tego ambitnego zamierzenia Doktorantka zbadała w obu obiektach występowanie Micromycetes – w postaci propagul w powietrzu (w bezpośrednim sąsiedztwie roślin) oraz grzybni w żywych i opadłych liściach trzynastu gatunków roślin wrzosowatych: azalii gandawskiej, azalii pontyjskiej, borówki wysokiej, chamedafne północnej, dabecji kantabryjskiej, kiścienia wawrzynowego, pierisa japońskiego, różanecznika dahurskiego, różanecznika Fotrunę'a, różanecznika katawbijskiego, różanecznika krótkoowocowego, różanecznika Makina i żurawiny wielkoowocowej.

Prace prowadzone w latach 2012-2014 obejmowały badania aeromykologiczne oraz izolacje i hodowlę grzybów z liści wymienionych roślin. Badania aeromykologiczne realizowano metodą sedymentacyjną Kocha, co roku 25 maja, 25 lipca i 25 września, w obu obiektach, na stałych stanowiskach badawczych, przy każdym z trzynastu badanych gatunków roślin. Izolacje grzybów z żywych i opadłych liści wykonywano z materiału zbieranego na tych samych stałych stanowiskach, w takich samych terminach. Każdorazowo próbę do badań stanowiło 10 liści żywych i 10 liści opadłych, z objawami nekroz i plamistości.

W wyniku badań łącznie otrzymano niemal 10.000 izolatów grzybów reprezentujących sto cztery gatunki, które zidentyfikowano metodami konwencjonalnymi. Uzyskane zbiorowiska Micromycetes porównano pod względem składu jakościowego wyliczając współczynnik podobieństwa zbiorowisk (liczbę Sørensen). Obliczono również współczynnik stałości występowania poszczególnych gatunków grzybów. Dla wyników badań aeromykologicznych wyliczono też stężenie zanieczyszczeń mykologicznych w powietrzu. Współczynniki te posłużyły do analizy eksploracyjnej wyników pracy a otrzymane wyniki nie zostały poddane analizie statystycznej.

Zidentyfikowano ponad 80 gatunków grzybów występujących w powietrzu nad badanymi roślinami, w obu obiektach łącznie. Reprezentowały one następujące rodzaje: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Mortierella*, *Penicillium* i *Trichoderma*. Ustalono, że więcej propagul Micromycetes było w bioaerozolu w Arboretum w Rogowie niż w krakowskim Ogrodzie Botanicznym UJ. Przypisano tę różnicę usytuowaniu Arboretum na skraju lasu i w pobliżu pól uprawnych, z których to obu środowisk zapewne nawiewane były liczniejsze i o bardziej zróżnicowanym składzie gatunkowym propagule grzybów, niż w słabo wentylowanym środowisku miejskim Krakowa.

Stwierdzono, że objawom chorób na liściach roślin wrzosowatych towarzyszyły przed wszystkim gatunki: *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Penicillium expansum* i *Pestalotiopsis sydowiana*, które łącznie stanowiły 60% izolatów uzyskanych z porażonych tkanek. Spośród nich dwa – *Pestalotiopsis sydowiana* i *Alternaria alternata* – stanowiły 36% izolatów z liści żywych z objawami plamistości i nekroz.

W obu obiektach badawczych określono grupę gatunków absolutnie stałych, występujących w powietrzu i powodujących (zdaniem Doktorantki) na liściach objawy w postaci nekroz. Dla powietrza były to: *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Davidiella macrocarpa*, *Epicoccum nigrum*, *Mortierella alpina*, *Trichoderma viride* i *Umbelopsis isabellina*. Na liściach natomiast grupa ta była znacznie liczniejsza i obejmowała: *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Coleophoma rhododendri*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium chlamydosporum*, *Gibberella avenacea*, *Mortierella alpina*, *Penicillium expansum*, *Penicillium jensenii*, *Pestalotia rhododendri*, *Pestalotiopsis sydowiana*, *Sordaria fimicola*, *Truncatella truncata* i *Umbelopsis isabellina*. Wśród gatunków absolutnie stałych na liściach nie było tylko

trzech (*Cladosporium herbarum*, *Davidiella macrocarpa*, *Trichoderma viride*) spośród ośmiu gatunków absolutnie stałych w powietrzu.

Poza grupami gatunków absolutnie stałych w powietrzu i liściach, wyosobniono niezmiernie liczne gatunki występujące w obu tych częściach środowiska, co skłoniło Doktorantkę do sformułowania wniosków nr 5, 6 i 7 – o tym, że większość zidentyfikowanych gatunków Micromycetes była odpowiedzialna za choroby liści i z porażonych liści uwalniała swe propagule do powietrza. Wobec dużej liczby zidentyfikowanych gatunków, których tylko część została określona we wcześniejszych publikacjach jako patogeny liści rododendronów i innych wrzosowatych, a także wobec braku badań potwierdzających przez zastosowanie reguł Kocha patogeniczność części tych gatunków, wnioski nr 5, 6 i 7 wymagałyby znacznie ostrożniejszego sformułowania. To samo odnosi się do kilku zawartych w „Dyskusji” stwierdzeń o powodowaniu objawów chorobowych przez wyizolowane gatunki grzybów. Stwierdzenia takie są uprawnione wyłącznie w odniesieniu do gatunków opisanych przez innych autorów, którzy stosując reguły Kocha potwierdzili patogeniczność wymienianych gatunków. W tym kontekście powstaje jednak zasadnicze pytanie, czy wszystkie izolaty uważane za czynniki chorobotwórcze są w istocie patogeniczne. W tym miejscu należy podkreślić, że sformułowanie tematu rozprawy doktorskiej jest jak najbardziej poprawne, a sformułowania w tekście pracy powinny być do niego dostosowane.

Odrębnym aspektem pracy jest odniesienie wyników badań bioaerozolu do zdrowia ludzi. Niektóre gatunki występujące w powietrzu nad badanymi roślinami znane są jako alergeny, inne zaś jako wytwarzające mykotoksyny. Jedne i drugie mogą – w sprzyjających warunkach – stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi. To podejście do zagadnienia rzutuje na nomenklaturę stosowaną w pracach z zakresu aeromykologii. W tekście pracy często występują w sformułowaniu: „powietrze zanieczyszczone przez Micromycetes” i „zanieczyszczenia mykologiczne” czy „zanieczyszczenie bioaerozolu przez grzyby”. W dyskusji i wnioskach pracy znalazło się uzasadnienie takiego nazewnictwa, stosowanego zresztą od dość dawna przez różnych autorów, w odniesieniu do zdrowia ludzi. Z punktu widzenia ekologii sformułowania te budzą jednak pewne wątpliwości, chodzi bowiem o naturalnie występujące w określonym ekosystemie składniki biocenozy, którymi są Micromycetes.

Ustalenia zawarte w pracy zwiększają w sposób znaczący zasób informacji na temat występowania Micromycetes w nadziemnej części środowiska, wzbogacając tym samym naszą wiedzę o ekologicznych uwarunkowaniach ich bytowania i wzrostu. Informacje te mają znaczenie zarówno z punktu widzenia fitopatologii, częściowo potwierdzając (a częściowo także rozszerzając) naszą dotychczasową wiedzę o zagrożeniu chorobowym Ericaceae, jak i z punktu widzenia ekologii i teorii ochrony roślin, a zwłaszcza obowiązującego obecnie systemu integrowanej ochrony roślin (integrated pest management, IPM). Wyraźnie bowiem zaznacza się zróżnicowanie w występowaniu poszczególnych gatunków Micromycetes w pobliżu lub/i w roślinach, w zależności od siedliska zajmowanego przez badane gatunki wrzosowatych. Stanowi to, z punktu widzenia ochrony roślin przed chorobami, cenną ilustrację zasady „IPM is site specific” (IPM zależy od siedliska).

Godne podkreślenia jest znalezienie i zidentyfikowanie na badanym materiale roślinnym dotychczas nie opisanych w literaturze przedmiotu gatunków grzybów należących do rodzajów: *Arthoderma*, *Boeremia*, *Cadophora*, *Gilmaniella*, *Isaria*, *Leptosphaeria*, *Papulaspora*, *Pleurostomophora*, *Talaromyces*, *Thantephorus* i *Wardomyces*. Wzbogaca to naszą, już wcześniej dość obszerną, wiedzę na ten temat.

Warto nadmienić, że opracowanie to wpisuje się w osiągnięcia krakowskiej grupy badaczy zgłębiających już od kilkunastu lat zagadnienie chorób roślin wrzosowatych, ze wszelkimi ich uwarunkowaniami.

Zakres prac zaplanowanych i wykonanych przez Doktorantkę był nader szeroki, a nakład pracy konieczny do zrealizowania – bardzo duży. Pani mgr inż. Joanna Bonio wykazała się dobrą umiejętnością organizacji pracy badawczej oraz opanowaniem warsztatu mikrobiologicznego w zakresie izolacji, hodowli i identyfikacji Micromycetes metodami konwencjonalnymi, a także zastosowania niektórych obliczeń statystycznych. Ogromna ilość zebranych danych spowodowała jednak pewne, nieuchronne, trudności w ich prezentacji i interpretacji, lub miejscami nawet jej brak.

Niejaki niedosyt powoduje skromne odniesienie wyników badań mykologicznych do uwarunkowań pogodowych, scharakteryzowanych na początku pracy.

Zestawienie wyliczonych wskaźników podobieństwa gatunkowego zbiorowisk, zaprezentowane w rozdziale „Wyniki” budzi pewne wątpliwości i wymaga głębszej

analizy. Tabela 8 (str. 49) zawiera zestawienie wartości współczynnika podobieństwa zbiorowisk Micromycetes pozyskanych z powietrza atmosferycznego we wszystkich terminach, na wszystkich stanowiskach badań łącznie, w obu obiektach. W omówieniu tabeli w tekście (str. 48) podano dla różnych par stanowisk wyszczególnienia najniższych, niskich, średnich i wysokich wartości współczynnika, które układają się losowo. Jedynie wśród wysokich wartości współczynnika znaczna część par robi wrażenie nieprzypadkowych, odnosi się bowiem do logicznie nasuwających się układów, czyli do Ogrodu Botanicznego i Arboretum w tym samym terminie albo do jednego obiektu w dwóch kolejnych terminach.

Tabela 32 (str. 93) zawiera zestawienie wartości współczynnika podobieństwa gatunkowego zbiorowisk Micromycetes pozyskanych z liści (żywych i opadłych) we wszystkich terminach, na wszystkich stanowiskach badań łącznie, w obu obiektach. W omówieniu tabeli w tekście (str. 92) znajdują się również wyszczególnienia największych, wysokich, średnich, niskich i najniższych wartości współczynnika dla par stanowisk, które wydają się układać losowo. Także w tym przypadku należało, zdaniem recenzenta, skupić się na analizie zestawionych ze sobą wartości współczynnika w odniesieniu do logicznie nasuwających się układów, czyli do liści żywych i opadłych z jednego stanowiska albo z Ogrodu Botanicznego i Arboretum w tym samym terminie, lub do jednego obiektu w dwóch kolejnych terminach.

Również Tabela 47 (str. 118) i jej omówienie (str. 117) nasuwają podobne refleksje. Próbę interpretacji wartości współczynnika podobieństwa przedstawiono w końcowej części dyskusji (str. 131-132), ale zasługuje ona jeszcze na głębsze przemyślenie.

Doktorantka nie ustrzegła się także pewnych usterek redakcyjnych.

Łacińskie nazwy rodzajowe należy zdecydowanie pisać kursywą.

W całym tekście rozprawy zamiennie używane są terminy „jednostki tworzące kolonie” i „jednostki koloniotwórcze”. W literaturze polskiej przyjęty jest pierwszy z tych terminów oraz jego skrót: jtk, więc należało trzymać się tego właśnie sformułowania.

W „Dyskusji” (str. 127) użyty został termin „patogeny odglebowe”, który jest niepoprawny. Z kontekstu wynika, że chodzi o patogeny glebowe, które żyją i rozmnażają się w glebie, stamtąd atakując rośliny i powodując choroby odglebowe (in. chtonogeniczne). Według Słownika fitopatologicznego (Kryczyński, Mańka i Sobiczewski, 2002):

Choroba odglebowa (choroba chtonogeniczna) – choroba rośliny powstająca i rozwijająca się wskutek infekcji przez patogeny zasiedlające glebę (patogeny glebowe).

Właściwe patogeny glebowe – patogeny glebowe, które są w stanie przetrwać w glebie bez obecności roślin-gospodarzy lub ich resztek, z reguły dzięki wytwarzaniu form przetrwalnych (np. zarodników przetrwalnikowych lub sklerocjów).

W całym tekście rozprawy oraz w tytułach tabel używane jest sformułowanie „w liściach żywych i odpadłych roślin wrzosowatych”, które jest stylistycznie niewłaściwe, ponieważ to liście były żywe lub opadłe, a nie rośliny wrzosowate.

Literatura zawiera imponującą liczbę niemal 300 pozycji, dobrze dobranych i należycie wykorzystanych w redakcji rozprawy. Miejscami jednak kolejność cytowanych prac jest niewłaściwa, a opisy bibliograficzne prac zamieszczonych w materiałach konferencyjnych są często niekompletne (brak zazwyczaj nazwy wydawnictwa i organizatora konferencji).

Powyższe uwagi mają na celu przyczynienie się do lepszego wyeksponowania walorów pracy i nie umniejszają jej podkreślonej wcześniej wartości.

Reasumując stwierdzam, że:

1. Praca podejmuje temat ambitny, ważny dla rozpoznania występowania Micromycetes w nadziemnej części środowiska roślin wrzosowatych oraz w liściach tych roślin. Jej głównym walorem jest wartość poznawcza z punktu widzenia zbiorowisk grzybów zasiedlających badane nisze ekologiczne (powietrze nad roślinami, żywe liście na roślinach, liście opadłe).
2. Doktorantka zrealizowała założony cel badawczy, poprawnie stosując wybrane metody, z ogromnym nakładem pracy.

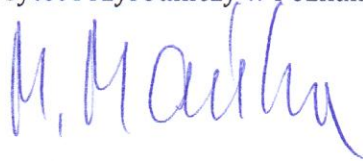
3. Literatura jest bardzo liczna i trafnie dobrana.
3. Interpretacja i dyskusja wyników są oparte na dobrej znajomości zagadnienia, aczkolwiek mogłyby jeszcze lepiej wyzyskać bogactwo zebranego materiału.
4. Rozprawa jest poprawnie przygotowana a dokumentacja naukowa – bardzo bogata i przejrzysta.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Joanny Bonio spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595).

W tym przekonaniu stawiam wniosek skierowany do Rady Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie Pani mgr inż. Joanny Bonio do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Katedry Fitopatologii Leśnej
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu



Prof. dr hab. Małgorzata Mańka, czł. koresp. PAN

Poznań, 31 maja 2016 r.