

Wpłynęło dnia 4. 11. 2019 r.
Lublin, dnia 29. 10. 2019 r.

520-17.10/2019

Dr hab. Elżbieta Patkowska profesor uczelni
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Katedra Ochrony Roślin
Zakład Fitopatologii i Mykologii
ul. St. Leszczyńskiego 7
20-069 Lublin

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marceliny Machury
pt. „ Aktywność biologiczna naturalnych substancji stosowanych do ochrony selera
korzeniowego *Apium graveolens* L. var. *rapaceum* (Mill.) Gaud. przed patogenami”
wykonanej w Katedrze Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin, na Wydziale Biotechnologii
i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie,
pod kierunkiem dr hab. Jacka Nawrockiego**

Podstawą jej wykonania jest pismo Pana Prof. dr hab. Stanisława Mazura, Dziekana Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z dnia 7.10.2019 r. (5 DBiO 520-19.60/2019), w związku z decyzją Rady w/w Wydziału o powołaniu mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marceliny Machury, dla uzyskania stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie: nauki rolnicze, dyscyplinie: rolnictwo i ogrodnictwo.

Dbłość o stan zdrowia człowieka jest niezmiernie ważna w kontekście zapobiegania rozwojowi chorób cywilizacyjnych. Jednym ze sposobów osiągnięcia tego celu jest stosowanie prawidłowej i zrównoważonej diety, bogatej m.in. w warzywa i owoce. Duża świadomość ekologiczna społeczeństwa, przy postępującym skażeniu środowiska, oraz obowiązek stosowania zasad integrowanej ochrony, wymuszają na rolnikach i ogrodnikach ograniczenie stosowania chemicznych środków ochrony roślin oraz poszukiwanie metod alternatywnych, pozwalających na uzyskanie bardzo dobrej jakości plonów, pozbawionych substancji szkodliwych. Zarówno w integrowanym jak i ekologicznym systemie uprawy, metody chemiczne ustępują metodom biologicznym, biotechnologicznym, fizycznym, agrotechnicznym i hodowlanym, co prowadzi do mniejszego wykorzystania pestycydów, przy jednoczesnym ograniczeniu rozwoju agrofagów. Nadmierne stosowanie środków chemicznych może przyczynić się do powstania odpornych form agrofagów, dlatego coraz większym zainteresowaniem cieszą się preparaty zawierające substancje biologiczne. Ponadto, znane, uboczne skutki stosowania fungicydów, dla zdrowia człowieka oraz środowiska, uzasadniają prowadzenie badań nad poszukiwaniem fitoncydów, skutecznych w ograniczaniu występowania

chorób roślin i powodujących je patogenów. Szkodliwość chorób objawia się bowiem nie tylko zmniejszeniem plonu oraz obniżeniem jego jakości, ale także nagromadzeniem się mykotoksyn w porażonych tkankach. Fakt ten jest ważny również w uprawie warzyw, w tym selera korzeniowego (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum* (Mill.) Gaud.). W Polsce do ochrony selera przed chorobami infekcyjnymi zarejestrowanych jest niewiele środków, tak więc opisane w ocenianej rozprawie zagadnienia należy uznać za celowe i odnoszące się do aktualnych problemów związanych z uprawą tego gatunku rośliny.

W literaturze naukowej z ostatnich lat niewiele jest informacji na temat chorób infekcyjnych selera korzeniowego i możliwości ich zwalczania, dlatego temat ocenianej rozprawy doktorskiej należy uznać za trafny, aktualny i ważny. Mgr inż. Marcelina Machura przedstawiła zagadnienia istotne nie tylko z czysto naukowego, ale i aplikacyjnego punktu widzenia, a interesującą problematykę badawczą ułożyła w logiczną całość. Przeanalizowała skuteczność czynników biologicznych, tj. mikroorganizmów (*Pythium oligandrum*, *Trichoderma harzianum* i *Bacillus subtilis*), ekstraktu z grejpfruta oraz olejków eterycznych (kminkowego i tymiankowego) w ochronie selera korzeniowego przed fitopatogenami. Oceniała zdrowotność liści w trakcie wzrostu roślin oraz korzeni selera po zbiorze i po okresie przechowywania. Określiła wartość biologiczną korzeni i dodatkowo oceniła wpływ testowanych czynników biologicznych na wybrane patogeny selera. W związku z tym uważam, że praca ta ma istotny walor poznawczy.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska posiada prawidłowy układ oraz poprawną kolejność rozdziałów, charakterystycznych dla tego rodzaju prac. Obejmuje 103 strony, w tym 31 tabel, 11 rycin oraz 4 fotografie. Odpowiedni podział pracy na poszczególne rozdziały z podrozdziałami ułatwia jej czytanie i zrozumienie.

Wykaz piśmiennictwa obejmuje 181 pozycji literatury oraz 13 odnośników do stron internetowych. W spisie tym brakuje jednak niektórych prac, które zacytowano w tekście. Są to pozycje takie jak: Kowalik i Krechniak 1961; Pinta 1977; Jobling i in. 2000; Tsi i Tan 2000; Sedlakova i in. 2001, 2003; Survilienė i Valiuškaite 2004; Jalaki-Heravi i in. 2007; Omidbeygi i in. 2007; Pukacka 2007; Yonemoto i in. 2008; Razzaghi-Abyaneh i in. 2009; Fatemi i in. 2011, Jovanka i in. 2011, Kędzia i in. 2013a, b; Seidler-Łożykowska 2013; Włodarek i in. 2016 oraz jeden odnośnik do strony internetowej (patrz str. 20 pracy). Należy jednak podkreślić, że literatura została prawidłowo dobrana i odpowiednio zacytowana. Obejmuje pozycje krajowe i zagraniczne, w tym ponad 45% w języku angielskim, zamieszczone często w renomowanych czasopismach naukowych, co czytającemu pracę dostarcza wielu informacji z zakresu opisywanej problematyki badawczej.

Wstęp jest bardzo zwięzły i wystarczająco wprowadza czytającego w podjęte do opracowania zagadnienia. Cel pracy i hipotezy badawcze zostały odpowiednio sprecyzowane. Być może należałoby się jeszcze dodatkowo odnieść do doświadczeń przeprowadzonych w warunkach szklarniowych.

Przegląd literatury jest obszerny i świadczy o dobrym przygotowaniu merytorycznym Pani mgr inż. Marceliny Machury do prowadzonych badań. Na 11 stronach zamieszczono informacje o właściwościach odżywczych i prozdrowotnych selera korzeniowego, jego wymaganiach glebowo-klimatycznych, głównych czynnikach infekcyjnych oraz powodowanych przez nie chorobach, zagrażających uprawie tego gatunku. Zwrócono uwagę na sposoby ograniczania występowania fitopatogenów, ze szczególnym uwzględnieniem metod biologicznej ochrony roślin. Nie ustrzeżono się jednak drobnych nieprawidłowości. W przypadku podawania nazw gatunkowych grzybów powinno się zacytować pełną nazwę, podając ją w tekście pierwszy raz, a w dalszej części stosować skróty tych nazw (np. po raz pierwszy: *Botrytis cinerea*, a nie *B. cinerea*). Uważam, że pewne zastrzeżenia mogą jednak budzić nazwy niektórych czynników infekcyjnych, o których wspomniano w rozdziale *Przegląd literatury*. W całej rozprawie doktorskiej nomenklaturę tą należałoby uaktualnić wg obowiązującego Index Fungorum. I tak np.: nie *Phoma apiicola*, lecz *Subplenodomus apiicola*; nie *Phoma exigua*, lecz *Boeremia exigua*; nie *Pythium debaryanum*, *P. irregulare*, *P. mastophorum*, lecz *Globisporangium debaryanum*, *G. irregulare*, *G. mastophorum*; nie *Ascochyta pisi*, lecz *Didymella pisi* itd. Niemniej jednak podkreślam, że przegląd dobrze dobranego piśmiennictwa pozwolił Autorce pracy doktorskiej na swobodną i trafną interpretację wyników badań oraz dyskusję.

Doktorantka wykonała pracochłonne badania polowe i szklarniowe oraz żmudne analizy laboratoryjne. Nie budzące zastrzeżeń metody badawcze zostały właściwie dobrane i szczegółowo opisane w rozdziale *Materiał i metody*. Bardzo szeroko zakrojone badania fitopatologiczne, mykologiczne i biochemiczne pozwoliły na pełną realizację zaplanowanych celów. Na podstawie doświadczenia polowego oceniono, według skal porażenia, zdrowotność liści podczas wzrostu roślin oraz korzeni (po zbiorze i po okresie przechowywania) dwóch odmian selera korzeniowego uprawianego z zastosowaniem: preparatów pochodzenia biologicznego (Polyversum WP, Rizocore®, Serenade ASO), preparatu biotechnicznego Biosept Active 33 SL oraz olejków eterycznych (kminkowego i tymiankowego). W doświadczeniu wykorzystano również fungicydy: Topsin M 500 SC, Topsin M 500 SL, Gwarant 500 SC, Scorpion 325 SC i Signum 33 WG. Prace laboratoryjne polegały m.in. na izolacji i identyfikacji podstawowych grup mikroorganizmów, zwłaszcza grzybów, zasiedlających korzenie badanego gatunku rośliny. Analizy mykologiczne wykonano zarówno

po zbiorze, jak i po okresie przechowywania korzeni selera. Wartość pracy podnoszą jednocześnie przeprowadzone analizy biochemiczne korzeni, które pozwoliły na oznaczenie w nich zawartości suchej masy, wybranych makro- i mikroelementów (K, Ca, Mg, P, Mn, Fe, Cu), cukrów rozpuszczalnych, kwasu L-askorbinowego, związków fenolowych oraz na ustalenie właściwości antyoksydacyjnych. Ponadto w warunkach *in vitro* oceniono wpływ wybranych czynników (olejku kminkowego i tymiankowego oraz preparatów Biosept Active 33 SL i Topsin M 500 S.C.) na wzrost liniowy niektórych gatunków grzybów polifagicznych. W warunkach szklarniowych przeprowadzono również badania nad patogenicznością niektórych gatunków grzybów dla rozsady oraz nad skutecznością ochronnego działania, testowanych wcześniej w warunkach *in vitro*, czynników biologicznych dla siewek selera korzeniowego. Zastosowane obliczenia statystyczne uzyskanych wyników ułatwiły ich interpretację. Uważam, że w rozdziale *Materiał i metody* można było pominąć charakterystykę testowanych w badaniach preparatów i olejków eterycznych, a informacje te zamieścić w rozdziałach *Przegląd literatury* lub *Dyskusja*. Opisując doświadczenia szklarniowe, należałoby podać liczbę badanych izolatów poszczególnych gatunków grzybów.

Najcenniejszymi elementami rozprawy są wyniki badań, zarówno dotyczące oceny zdrowotności roślin, zbiorowisk grzybów zasiedlających korzenie, jak i określające skuteczność wybranych mikroorganizmów lub substancji biologicznych w ochronie selera korzeniowego. Istotne znaczenie mają wyniki dotyczące wartości biologicznej korzeni po zbiorze i po okresie ich przechowywania. Wszystkie są starannie udokumentowane, interesująco opracowane, szczegółowo omówione i prawidłowo zinterpretowane. Ze względu na bardzo obszerną treść rozdział *Wyniki* podzielono na szereg podrozdziałów ułatwiających zrozumienie pracy. Na podstawie wykonanych eksperymentów ustalono m.in., że: niezależnie od odmiany czy zastosowanego środka, wśród grzybów zasiedlających korzenie selera dominują rodzaje *Fusarium* i *Alternaria*; Biosept Active 33 SL oraz olejek kminkowy mogą ograniczać występowanie septoriozy i cerkosporozy na liściach selera; po okresie przechowywania zmniejsza się zawartość cukrów rozpuszczalnych oraz kwasu L-askorbinowego, a wzrasta zawartość związków fenolowych w korzeniach selera. Zastosowanie reguły Kocha w doświadczeniu infekcyjnym potwierdziło wiarygodność wyników i dało podstawę do wyciągnięcia prawidłowych wniosków. Trafnym i poprawnym założeniem było również porównanie skuteczności fungistatycznej olejków eterycznych i preparatu Biosept Active 33 SL z preparatem chemicznym.

Przygotowując uzyskane wyniki badań do ich opublikowania, należałoby uwzględnić następujące spostrzeżenia:

- w tytułach tabel 4-6 zamiast „Wpływ odmian selera i zastosowanych preparatów na porażenie...itd.” można byłoby napisać odpowiednio: „Indeks porażenia liści przez *Septoria apiicola* itd.”, „Indeks porażenia liści przez *Cercospora apii* itd.”, „Indeks porażenia korzeni itd.”;
- w tytule tabeli 8 zamiast „Zestawienie strat w masie korzeni selera...itd.” można byłoby napisać: „Ubytek masy korzeni selera itd.”;
- przy fotografiach 1-4 należy podać ilu dniowe kolonie poszczególnych gatunków grzybów są na nich zaprezentowane;
- w tytułach tabel 12-25 można usunąć „...w zależności od zastosowanego preparatu oraz odmiany...”;
- w tytułach tabel 16-18 można „Zawartość pierwiastków Ca, Mg, K, Na, Zn, Fe, Mn ...itd.” zapisać jako „Zawartość badanych pierwiastkówitd.”;
- w nagłówku tabeli 26 należy „Średnice (mm)” zastąpić „Średnica plam nekrotycznych (mm)”;
- tytuł podrozdziału 6.1.7 (patrz str. 37 pracy) można zamienić na „Zbiorowiska grzybów zasiedlające chore korzenie selera po zbiorze”;
- tytuł podrozdziału 6.3.1 (patrz str. 63 pracy) można zamienić na „Ocena patogeniczności wybranych izolatów grzybów dla rozsady selera korzeniowego”.

Rozdział *Dyskusja* został napisany poprawnie. Zwięźle i ostrożnie zanalizowano oraz porównano wyniki badań własnych z danymi uzyskanymi przez innych badaczy. Porównanie to jest rzeczowe i obiektywne. Moim zdaniem, w pracy można było jeszcze zamieścić nieco szerszy komentarz, podsumowujący całość przeprowadzonych badań.

Na podstawie uzyskanych wyników opracowano 7 wniosków odpowiadających postawionemu celowi badań. Szczególnie podkreślono, że biologiczna ochrona selera korzeniowego w okresie wegetacji zabezpiecza go przed porażeniem przez fitopatogeny, natomiast nie zawsze wpływa na zachowanie dobrej zdrowotności podczas długotrwałego przechowywania. Wartościowe jest wskazanie Polyversum WP i Biosept Active 33 SL jako preparatów najkorzystniej wpływających na zdrowotność korzeni selera, a także podkreślenie roli olejku kminkowego i tymiankowego oraz preparatu Biosept Active 33 SL w istotnym ograniczaniu występowania septoriozy i cercosporozy na liściach *Apium graveolens* var. *rapaceum*. We wniosku drugim należy zamienić: „porażenie liści przez septoriozę selera” na „występowanie septoriozy na liściach selera”.

Na podkreślenie zasługuje spójność zaplanowanych badań. Poszczególne elementy pracy są przemyślane, a wyniki badań poparte obliczeniami statystycznymi, co świadczy o dobrym warsztacie badawczym Autorki.

Mimo uwag, w znacznej mierze redakcyjnych, niekiedy dyskusyjnych i możliwych do skorygowania podczas przygotowywania publikacji do druku, a jednocześnie nie umniejszających wartości merytorycznej, opracowana przez Doktorantkę rozprawa naukowa jest cennym źródłem wiedzy o czynnikach infekcyjnych zagrażających uprawie *Apium graveolens* var. *rapaceum* i możliwościach ich zwalczania. Należy podkreślić, że mgr inż. Marcelina Machura, wykorzystując w badaniach nad zdrowotnością roślin selera korzeniowego, alternatywnie dla chemicznych, metody ochrony, potwierdziła negatywne dla środowiska skutki stosowania pestycydów, których szkodliwe dla zdrowia substancje aktywne mogą nadmiernie kumulować się w roślinach. Dzięki podjęciu przez Doktorantkę próby udowodnienia skuteczności biologicznych metod ochrony w uprawie selera, oceniana rozprawa ma bardzo istotny, proekologiczny aspekt praktyczny. Testowane biologiczne i biotechniczne preparaty można bowiem włączyć do programu ochrony *Apium graveolens* var. *rapaceum* przed fitopatogenami nalistnymi i glebowymi, a tym samym wzbogacić wąski dotychczas asortyment zarejestrowanych środków chemicznych, przeznaczonych do ochrony tego gatunku rośliny.

WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawioną mi rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko pod względem merytorycznym. Jest to oryginalne i wartościowe opracowanie wnoszące istotne dane do nauki. Na tę ocenę składa się trafnie wybrany temat rozprawy doktorskiej, szeroki zakres badań, logiczna i właściwa analiza wyników badań oraz prawidłowo napisana dyskusja. Dokumentacja jest pełna i przejrzysta, a uzyskane wyniki posiadają wartość poznawczą i aplikacyjną. Całość świadczy o dużej wiedzy teoretycznej, dobrym przygotowaniu naukowym oraz pracowitości Doktorantki.

Stwierdzam, że praca ta spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim, określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789).

Wnioskuje o dopuszczenie Pani mgr inż. Marceliny Machury do dalszych etapów przewodu doktorskiego o nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie: nauki rolnicze, dyscyplinie: rolnictwo i ogrodnictwo.

Dr hab. Elżbieta Patkowska profesor uczelni