



prof. dr hab. Elżbieta Płaskowska
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Katedra Ochrony Roślin
Ul. Grunwaldzka 24A
50 – 363 Wrocław

Wrocław, dnia 23.11.2022 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Edyty Alicji Kwiatkowskiej

pt. „**Biologia i zwalczanie *Colletotrichum lupini* występującego na łubinach**”

wykonanej

w Katedrze Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej

Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Tomasza P. Kurowskiego

Doktorantka w swojej pracy podjęła istotny problem związany z poznaniem biologii i możliwości zwalczania *Colletotrichum lupini* na plantacjach łubinu. Grzyb ten powoduje najgroźniejszą chorobę tej rośliny - antraknozę łubinu, która przyczyniła się w znacznym stopniu do ograniczenia arealu uprawy tej wysokobiałkowej rośliny. W najbliższych latach będzie w Polsce znacznie wzrastać zainteresowanie rolników uprawą roślin bobowatych, w tym łubinów z uwagi na dopłaty unijne do powierzchni upraw roślin strączkowych na ziarno. Współcześnie, w trosce o środowisko naturalne, zaspokojenie potrzeb pokarmowych ludzkości i ograniczenie importowanej soi w paszach wykorzystywanych w żywieniu zwierząt, konieczne jest promowanie upraw wysokobiałkowych i korzyści z nich wynikających. W świetle tych wstępnych rozważań, należy podkreślić celowość i trafność wyboru tematyki przedstawionej w ocenianej pracy.

Oceniana praca doktorska spełnia wymogi formalne. Liczy 138 stron maszynopisu. Charakteryzuje się klasycznym układem obejmującym następujące rozdziały: wstęp, cel i zakres pracy oraz hipotezy badawcze, materiał i metody, przebieg pogody, wyniki badań, dyskusja, wnioski, piśmiennictwo, załączniki w postaci tabel, rycin i fotografii oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Rozdziały materiał i metody badań oraz wyniki badań zawierają wiele podrozdziałów i podpunktów. Wszystkie części stanowią logicznie powiązaną całość i odpowiadają strukturze tego typu opracowaniom.



We wstępie Autorka ciekawie wprowadza w zagadnienie będące jej tematem badań. Podaje podstawowe informacje na temat rodzaju *Lupinus*, jego pochodzenia i zasięgu występowania, możliwości wykorzystania jako wysokobiałkowej paszy dla zwierząt oraz korzystnego oddziaływania na glebę. Zwraca uwagę na wzrost, a później spadek zainteresowania rolników uprawą tej rośliny z uwagi na pojawienie się w latach 90-tych XX wieku antraknozy łubinu i strat plonu nawet na poziomie 90%, jak i problemów związanych z poszukiwaniami metod ograniczenia jej rozwoju. Zacytowana we wstępie literatura potwierdza ważność problemu.

Cel i zakres pracy oraz hipotezy badawcze zostały prawidłowo sformułowane. Są interesujące, zrozumiałe oraz przejrzyste. Co więcej zadania, które sobie postawiła mgr Edyta A. Kwiatkowska mają ogromne znaczenie dla praktyki rolniczej.

Przegląd literatury jest obszerny, powstał w oparciu o aktualną wiedzę na temat zalet uprawy łubinu, jego pochodzenia, gatunków uprawnych i dziko rosnących, znaczenia gospodarczego oraz ważnych chorób łubinu, w szczególności antraknozy łubinu. Autorka podaje, że łubin wraz z innymi roślinami bobowatymi np. grochem siewnym czy bobikiem powinien być ekonomiczną alternatywą dla wysokobiałkowej śruty sojowej. Nasiona roślin bobowatych są bogate w białko, więc można je stosować w żywieniu trzody chlewnej i drobiu. W Polsce uprawiane są głównie łubin biały, wąskolistny i żółty. Dodatkową zaletą roślin bobowatych, w tym łubinu, jest urozmaicenie tradycyjnego płodozmianu wysyconego zbożami. Pozwala to na przerwanie intensywnej uprawy, która przyczynia się do znacznego zubożenia gleby w składniki odżywcze i pogorszenia jej struktury. Niestety nadal na plantacjach łubinu będzie występował problem związany z występowaniem antraknozy, ponieważ nie znaleziono dotychczas genetycznego źródła odporności tej rośliny na infekcję przez *C. lupini*, a Unia Europejska wycofuje z rynku wiele substancji czynnych stosowanych w ochronie łubinu.

W rozdziale **material i metody badań**, na 23 stronach wyczerpująco opisany został rodzaj podjętych działań naukowych. Doktorantka dobrze zaprojektowała schemat wieloletnich badań, który obejmował trzy niezależne, ale wzajemnie się uzupełniające grupy doświadczeń (polowe, wazonowe w hali wegetacyjnej i laboratoryjne). Autorka przedstawiła precyzyjnie charakterystykę, każdej z tych grup badań oraz stosowanych w nich metod badawczych. Należy podkreślić ich różnorodność, co oczywiście wzbogaca pracę i czyni ją bardziej wszechstronną i interesującą. Moim zdaniem warto zastanowić się, czy niektórych podpunktów tego rozdziału nie połączyć razem pod wspólnym tytułem, ponieważ ich zbytne uszczegółowienie utrudnia stworzenie zwartej całości. Elementy, które pracy warto połączyć zostawiam Autorce do przemyślenia.



Analiza **przebiegu pogody** w trakcie 11 lat trwania doświadczenia pozwoliła na uzyskanie wielu interesujących i wiarygodnych informacji, wykorzystanych później w dyskusji. Deszczowa i wietrzna pogoda zapewniała optymalne warunki do rozprzestrzeniania się patogenu na duże odległości i stwarzała zagrożenie powstawania coraz to nowych ognisk infekcji na łądych i strąkach.

Wyniki badań swojej pracy Doktorantka przedstawiła w bardzo szczegółowy sposób, opisowo (18 stron) oraz w 28 tabelach i 4 rycinach. Zostały też udokumentowane 2 fotografiami. Mając na uwadze tematykę problemu należy podkreślić, że mgr Edyta A. Kwiatkowska zmierzyła się z trudnym i wieloaspektowym, a także bardzo pracochłonnym zadaniem. Na podkreślenie zasługuje duża liczba uzyskanych wyników oraz umiejętność Autorki ich syntetycznego przedstawienia. Ułatwia to czytelnikowi merytoryczną ocenę, tak licznych dokonań. Pracę dokorską cechuje wysoka wartość poznawcza i aplikacyjna. Za ważne z punktu widzenia biologii patogenu uważam badania związane z określeniem optymalnej temperatury dla rozwoju grzybni *C. lupini* oraz pH gleby. Wynika z nich, że przy temp. 15-25°C należy monitorować stan zdrowotny upraw, a wzrost pH do lekko kwaśnego (6,2) ogranicza wzrost grzybni. Cenne są też badania zmierzające do ustalenia progu infekcyjności, progiem tym dla gatunków i odmian łubinu było stężenie 16×10^3 zarodników *C. lupini* na 1 ml wody. Z kolei wykonanie testów biotycznych pozwoliło określić oddziaływanie mikroorganizmów znajdujących się w środowisku na *C. lupini* i stwierdzić, że *Trichoderma harzianum* najskuteczniej ogranicza *C. lupini* w środowisku. Bardzo ciekawe wyniki uzyskała nad oddziaływaniem bakterii na wzrost grzybni patogenu. W literaturze są nieliczne informacje na ten temat. Wiele cennych informacji do nauki wniosły badania genetyczne. Test PCR-ITS pozwolił na zaklasyfikowanie licznych izolatów pozyskanych z łubinów do gatunku *C. lupini*. W celu ustalenia DNA w siewkach wykorzystano metodę qPCR zakładając, że występowanie DNA patogenu w tkankach roślinnych oznacza utajoną infekcję. Szkoda, że we wnioskach nie wskazano na możliwość wykorzystania technik molekularnych do określenia odporności odmian łubinu na porażenie przez *C. lupini*. Z uwagi na to, że badania prowadzono w latach 2004-2018, to zastosowane w doświadczeniach z ochroną fungicydową preparaty chemiczne zostały obecnie wycofane, zgodnie z zaleceniami Parlamentu Europejskiego. Jednak wartość tych badań pozostała, ponieważ porównywano do nich skuteczność działania w zwalczaniu *C. lupini* biopreparatów i preparatów biotechnicznych. Spośród preparatów nie chemicznych do stosowania w ochronie łubinu przed antraknozą Autorka rekomenduje szczególnie stymulator wzrostu Asahi SL, który wyraźnie poprawia zdrowotność roślin. W ocenie końcowej tego rozdziału uważam, że praca jest samodzielnym dorobkiem Doktorantki i dowodzi umiejętności formułowania przez nią problemów badawczych i dobrej organizacji warsztatu badawczego.



Dyskusja jest bardzo ważnym rozdziałem pracy, ponieważ wyjaśnia się w nim, komentowane i porównywane wyniki własne z badaniami innych autorów. Doktorantka napisała dyskusję prawidłowo, w sposób przejrzysty, przybliżając czytającemu tematykę przeprowadzonych doświadczeń polowych i wazonowych oraz analiz mykologicznych. Jej umiejętność i swoboda poruszania się po tak wielu zagadnieniach omawianych w pracy świadczy o dobrej znajomości omawianego zagadnienia. Dyskusja zawiera wiele interesujących treści. Spośród uprawianych w Polsce łubinów najsilniej porażane przez *C. lupini* były odmiany łubinu białego i łubinu żółtego. Łubin wieloletni występujący w krajobrazie leśnym, w przestrzeni miejskiej oraz łubin ozdobny okazały się średnio podatne na porażenie przez tego patogena. Jednak w kolejnych latach trwania epidemii obserwowano ich zamieranie, a przez to zmniejszenie bioróżnorodności tych siedlisk. Autorka podaje, że w celu zmniejszenia potencjału transmisji patogenu wielu autorów rekomenduje przechowywanie łubinu przez dłuższy czas tj. 4 lub 2 lata. Z jej badań wynika, że po półrocznym okresie przechowywania materiału siewnego patogen jest aktywny, ale już widać zmiany w strukturze grzybni, co może zapowiadać spadek możliwości przetrwania przez dłuższy czas. Ponadto ustaliła, że pierwotna infekcja nasion w mniejszym stopniu wpływa na spadek masy tysiąca nasion niż infekcja wtórna. Cenną informacją jest stwierdzenie, że wysiewanie nasion na to samo pole w kolejnym roku, podyktowane oszczędnością przyczynia się do wzrostu zjadliwości patogenu w stosunku do siewek roślin z których zostały pozyskane. Jest to ważna wskazówka dla rolników. Zwraca też uwagę, aby koniecznie wykonać zabieg przed infekcją, ponieważ nawet mniej podatne odmiany ulegają silniejszemu porażeniu po opóźnieniu terminu opryskiwania.

Na podstawie poprawnie opracowanych wyników oraz analiz mykologicznych wysnuto 18 **wniosków**, które konkludują uzyskane wyniki i potwierdzają słuszność zaprojektowanych i przeprowadzonych badań. Jednak więcej nie zawsze oznacza lepiej. Niektóre wnioski lepiej połączyć razem np. 4 i 18 lub 1 z 5, ponieważ osobno są zbyt ogólne. Ważnym wnioskiem z tej pracy jest ustalenie, że pierwotnym źródłem infekcji są głównie nasiona, a wtórną infekcję dokonują zarodniki konidialne przenoszone z kroplami deszczu i wiatrem, tworzące się na łądych i strąkach. Równie istotny i nie mniej ważny jest wniosek wskazujący na konieczność zaprawiania nasion, ponieważ po półrocznym przechowywaniu następuje tylko nieznaczny spadek liczebności *C. lupini*. W czasie, kiedy wycofywane są z rynku stosowane dotychczas w ochronie łubinu fungicydy na szczególne uznanie zasługuje wniosek praktyczny mówiący, że preparaty biologiczne najmniej efektywnie chronią rośliny przed infekcją i dlatego należy stosować preparaty biotechniczne, które w zadawalającym stopniu chronią łubiny przed porażeniem przez *C. lupini*. Szkoda, że Doktorantka nie nadmieniła, że w przypadku związków srebra występuje duża fitotoksyczność, co powoduje ich ograniczenie w stosowaniu w ochronie roślin. Są to uwagi łatwe do skorygowania podczas przygotowywania publikacji do druku.



Piśmiennictwo zawarte w recenzowanej pracy liczy aż 202 pozycje i 9 stron internetowych, są one prawidłowo dobrane i obejmują najnowsze artykuły dotyczące omawianych zagadnień. Większość pozycji naukowych została wykorzystana w przeglądzie literatury.

Drobne uwagi krytyczne mają charakter edytorski i nie wpływają w żaden sposób na wysoką ocenę pracy.

- Doktorantka powinna przeanalizować tabele 9-10 oraz 27-28. W tabelach 9-10 warto liniami poprzecznymi rozdzielić poszczególne gatunki łubinu. Tabele zyskają na przejrzystości, bo nie trzeba będzie tyle razy powtarzać nazwę gatunku. Z kolei tabele 27-28 zajmują po 3 strony, a zawierają często tylko pojedyncze izolaty grzybów wyosobnionych z nasion odkażonych i nieodkażonych łubinu. Oczywiście ich identyfikacja do gatunku wymagała dużo pracy, ale można je wymienić pod tabelami.

- W rozdziale Materiał i metody badań, Autorka opisuje lub wymienia środki ochrony roślin. Tam, gdzie je wymienia podaje opisany powyżej. Niestety w niektórych przypadkach jest to 2 strony wcześniej, lepiej podać nr strony. Na str. 39 na końcu zdania w podrozdziale 4.3.1.2. podano informację „Wyniki przedstawiono w postaci tabel i wykresów”. Należy podać ich numer lub zrezygnować z tego zdania, bo znajduje się ono w rozdziale Wyniki badań.

- Praca doktorska jest napisana ładną polszczyzną. Jednak należy pamiętać, aby nie zaczynać zdania od skrótów np. *C. lupini*. We wstępie warto poprawić zdanie „powierzchnia uprawy jest niewielka, chociaż ulega dużym wahaniom”. Lepiej napisać w odwrotnej kolejności i zaznaczyć, że obecnie jest niewielka.

Reasumując pragnę podkreślić, że mgr Edyta A. Kwiatkowska w swojej pracy doktorskiej podjęła się analizy bardzo interesującego oraz niezwykle ważnego dla producentów łubinu problemu jakim jest jego ochrona roślin przed porażeniem przez *C. lupini*. Wymagało to przeprowadzenia wieloaspektowych badań, aby poznać biologię tego patogenu i możliwości jego zwalczania, szczególnie metodami nie chemicznymi. Wiedza na ten temat jest wciąż niewystarczająca. Doktorantka w pełni zrealizowała wyznaczone cele, zastosowała odpowiednie metody badawcze, poprawnie przeanalizowała uzyskane wyniki i sformułowała adekwatne do celów wnioski. Było to trudne zadanie, z uwagi na wieloletni cykl badań oraz jego obszerny zakres. Wyniki tych badań powinny stanowić podstawę do stworzenia zaleceń dotyczących skutecznego zwalczania *C. lupini*, co pozwoli na zwiększenie areał uprawy tej cennej wysokobiałkowej rośliny w Polsce.



UNIwersytet
PRZYRODNICZY
WE WROCLAWIU

KATEDRA OCHRONY ROŚLIN

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. „Biologia i zwalczanie *Colletotrichum lupini* występującego na łubinach” spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 ze zmianami).

Wniosuję do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Wydziału Rolnictwa i Leśnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pani mgr Edyty Alicji Kwiatkowskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie jej stopnia doktora nauk rolniczych i ogrodniczych.

Elżbieta Płaskowska

Prof. dr hab. Elżbieta Płaskowska