

**AUTOREFERAT PRZEDSTAWIAJĄCY
OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH**

dr inż. Adam Okorski

Katedra Entomologii, Fitopatologii

i Diagnostyki Molekularnej

Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa

Uniwersytet Warmińsko - Mazurski w Olsztynie

Olsztyn 2018

1. Imię i Nazwisko: Adam Okorski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

2002 – magister inżynier rolnictwa, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko - Mazurskiego w Olsztynie; tytuł pracy magisterskiej: *„Wpływ stresu mineralnego na produktywność, zdrowotność i wskaźniki wymiany gazowej niektórych genotypów roślin strączkowych”*,

Promotor: prof. dr hab. Gabriel Fordoński.

2006 r.- **Doktor Nauk Rolniczych** w zakresie **Agronomii**, specjalność: **Ochrona roślin**, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko - Mazurskiego w Olsztynie; tytuł rozprawy doktorskiej: *„Wpływ efektywnych mikroorganizmów na zmiany ilościowe i jakościowe grzybów zasiedlających ryzosferę i nasiona grochu siewnego (*Pisum sativum* L.)”*,

Promotor: prof. dr hab. Barbara Majchrzak.

Recenzenci: prof. dr hab. Gabriel Fordoński, prof. dr hab. Czesław Kazimierz Sadowski.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

Od 01.11.2006 r., - specjalista, Katedra Diagnostyki i Patofizjologii Roślin, UWM w Olsztynie;

Od 01.04.2011 r.,- starszy specjalista, Katedra Diagnostyki i Patofizjologii Roślin, UWM w Olsztynie;

Od 01.12.2014 r., - adiunkt: Katedra Diagnostyki i Patofizjologii Roślin, UWM w Olsztynie;

Od 01.01.2015 do chwili obecnej - adiunkt w Katedrze Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej, UWM w Olsztynie

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 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 ze zm.):

A. Tytuł osiągnięcia naukowego: MOLEKULARNE METODY DIAGNOSTYKI W IDENTYFIKACJI PATOGENÓW GRZYBOWYCH-ROŚLIN-UPRAWNYCH I SADZONEK-DRZEW LEŚNYCH

B. Cykl pięciu oryginalnych prac:

P1. Pszczółkowska A., Okorski A., Fordoński G., Prusiński J., Faligowska A., Borowska M. 2017. Fungal colonization of seeds of three lupine species in different regions of Poland. ACTA AGROBOTANICA. 70(2): 1714.

MNiSW 2018 = 14 pkt,

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współopracowaniu założeń metodycznych pracy, współwykonaniu analiz laboratoryjnych (mykologiczna analiza nasion, PCR) opracowaniu statycznym wyników pracy oraz współudziale w opracowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy w pracy to 50%.

P2. Pszczółkowska A., **Okorski A.**, Olszewski J., Jarmołkiewicz J. 2013. Fungal pathogens of the genus *Fusarium* in winter wheat protected with fungicides in north-eastern Poland. ACTA AGROBOTANICA. 66(2): 95–106.

MNiSW 2013=8 pkt

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wykonaniu analiz molekularnych metodą qPCR, ocenie zdrowotności nasion metodą hodowlaną, statystycznym opracowania wyników, współudziale w opracowaniu wniosków pracy oraz w opracowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy w pracy to 50%.

P3. **Okorski A.**, Polak-Śliwińska M., Karpiesiuk K., Pszczółkowska A., Kozera W. 2017. Real time PCR: a good tool to estimate mycotoxin contamination in pig diets. WORLD MYCOTOXIN JOURNAL. DOI: 10.3920/WMJ2016.2137.

MNiSW 2017 = 25 pkt, IF2017 =1,727

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, opracowaniu protokołów do badań molekularnych, wykonaniu analiz mykologicznych, izolacji DNA, wykonaniu analiz qPCR, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników badań (część molekularna oraz zawartość mykotoksyn w paszach), napisaniu manuskryptu (autor korespondencyjny). Swoj udział szacuję na 70%.

P4. **Okorski A.**, Pszczółkowska A., Okorska S., Fordoński G. 2015. First Report of *Fagus sylvatica* Infection by *Fusarium avenaceum* in Forest Container Nurseries in North-eastern Poland. PLANT DISEASE, 99(3): 420.

MNiSW 2015 = 35 pkt, IF2015 = 3,02

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu problemu badawczego, ocenie zdrowotności roślin buka w szkółce kontenerowej, wyizolowaniu *F. avenaceum* z tkanek buka metodą hodowlaną, izolacji DNA, współwykonaniu sekwencjonowania DNA, wykonaniu analiz bioinformatycznych, potwierdzeniu zdolności infekcyjnych szczepów *F. avenaceum* wobec siewek buka, reizolacji sprawcy choroby oraz potwierdzeniu jego przynależności systematycznej. Pełniłem wiodącą rolę w opracowaniu manuskryptu (autor korespondencyjny). Swoj udział określę na 80%.*

P5. **Okorski A.**, Pszczółkowska A., Sulima P., Pauksztó Ł., Jastrzębski P.J., Przyborowski J., Makowczenko K.G. 2018. First Report of Willow Anthracnose Caused by *Colletotrichum salicis* in Poland. PLANT DISEASE, 102(10): 2036.

MNiSW2018 = 35 pkt, IF2018 =2,941

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na w sformułowaniu problemu badawczego, ocenie zdrowotności roślin wierzby, wykonaniu analiz fitopatologicznych, izolacji DNA, współwykonaniu sekwencjonowania DNA, potwierdzeniu zdolności infekcyjnych szczepów *C. salicis* wobec siewek wierzby, reizolacji sprawcy choroby oraz potwierdzeniu jego przynależności systematycznej metodą qPCR. Pełniłem wiodącą rolę w opracowaniu manuskryptu (autor korespondencyjny). Swoj udział określę na 70%.*

Sumaryczny IF z roku opublikowania = **7,688**

Suma punktów MNiSW = **117**

5. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Omówienie osiągnięcia naukowego

Wstęp

Grzyby patogeniczne są bardzo rozpowszechnione w środowisku i zasiedlają różnorodny materiał roślinny. Na skutek migracji ludzi, rozwoju handlu oraz stosowania zróżnicowanych dróg transportu dochodzi do przemieszczania czynników chorobotwórczych dla roślin w skali świata. Proces łatwego przenikania patogenów potęgują zmiany klimatyczne wpływające na przemiany jakościowe w populacjach mikroorganizmów, które występują w agrocenozach. Na rozprzestrzenianie patogenów wpływ mają: globalizacja, wzrost liczebności populacji człowieka, handel i migracje, wzrost stężenia CO₂ w atmosferze, zakwaszenie oceanów, zanieczyszczenia chemiczne w przemyśle i rolnictwie. Za przyczynę częstych infekcji o dotkliwym dla producentów zakresie, obserwowanych w XX wieku, uważa się także zawężenie różnorodności genetycznej roślin uprawnych (Sache i in. 2011). Badania wskazują, że mikroflora występująca naturalnie na użytkach rolniczych przenika do ekosystemów leśnych, a gatunki patogenów charakterystyczne dla roślin uprawnych, w sprzyjających warunkach mogą stanowić zagrożenie dla drzew, a w szczególności dla ich siewek uprawianych w szkółkach. W ostatnich latach dostrzeżono także problem, tzw. gatunków obcych obejmujących grupę patogenów inwazyjnych. Ich obecność stwierdzono w największych krajach europejskich: Francji, Wielkiej Brytanii, Niemczech i Włoszech, jednakże za wskaźnik zagrożenia przenikania gatunków obcych nie przyjmuje się powierzchni kraju, jego położenia geograficznego czy specyfiki klimatu, lecz wielkość importu gatunków nierodzimych (Sache i in. 2011). Przypuszcza się, że większość odnotowanych introdukcji gatunków obcych wystąpiło na skutek nieumyślnego przeniesienia z zakażonym materiałem biologicznym, co jest w dobie migracji ludzi oraz łatwego przemieszczania towarów w ramach UE dużym zagrożeniem. Dlatego wielu badaczy uważa, że wiedza na temat rozprzestrzeniania się patogenów ze szczególnym uwzględnieniem nowych gatunków wymaga ciągłej aktualizacji (Desprez-Loustau i in. 2010; Santini i in. 2013). Desprez-Loustau i in. (2010) na podstawie badań wykazali dodatnią korelację pomiędzy częstością występowania gatunków patogenów obcych, a średnią roczną sumą opadów oraz średnią temperaturą powietrza. Analizując warunki atmosferyczne w zestawieniu z występowaniem gatunków obcych Motiejūnaitė i in. (2017) wskazali, że scenariusze zmian klimatycznych przewidują przede wszystkim wzrost średniej rocznej temperatury z niezmiennym lub zwiększonym poziomem opadów atmosferycznych w ciągu

roku. Ich zdaniem obecnie występujące zmiany klimatu, ze względu na duże tempo, powodują stres dla lokalnych zbiorowisk roślinnych, przez co stają się bardziej podatne na infekcje. Z drugiej strony ocieplenie, a więc łagodniejszy klimat stwarza korzystne warunki dla adaptacji nowych gatunków patogenów. Dlatego dla planowania środków zapobiegawczych infekcji przez patogeny, powodujące choroby roślin w stosunku do zorganizowanej, profesjonalnej produkcji roślinnej (rolnictwo, ogrodnictwo i leśnictwo) ważne jest prowadzenie regularnego i intensywnego monitoringu patogenów i chorób oraz badań oceniających zakres ich rozprzestrzeniania na dużą skalę. Wytyczne dotyczące monitoringu chorób oraz występowania patogenów wpisane są w prawodawstwo dotyczące integrowanej ochrony roślin (Art. 14 Dyrektywy 2009/128/WE, rozporządzenie nr 1107/2009/WE), które precyzują że jest on jednym z ważnych elementów prewencji, jak również procesu decyzyjnego o sposobie ochrony roślin (Ustawa z dnia 8 marca 2013 r. o środkach ochrony roślin, Dz. U. poz. 455, rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 kwietnia 2013 r. w sprawie wymagań integrowanej ochrony roślin, Dz. U. poz. 505). Precyzyjna diagnostyka czynników infekcyjnych jest niezwykle ważna w prewencji chorób ponieważ determinuje zakres i rodzaj ochrony (metoda biologiczna, chemiczna etc.) lub rezygnację z podjęcia zabiegu ze względu na fakt występowania patogenów o niewielkiej szkodliwości, powodujących na roślinach zmiany o charakterze estetycznym. W przypadku identyfikacji czynnika chorobotwórczego taka diagnostyka pozwala na przewidywanie zakresu objawów chorobowych, ponieważ cykl życiowy patogenów grzybowych bytujących na roślinach jest ściśle powiązany z warunkami klimatycznym. Rozpoznanie sprawcy choroby na podstawie objawów może być obarczone błędem, ponieważ wiele grzybów wywołuje na roślinach takie same lub podobne objawy chorobowe, których zakres zależy w dużej mierze od warunków środowiskowych, gatunku i odmiany rośliny uprawnej oraz poziomu kultury agrotechnicznej w konkretnej uprawie. Dlatego też dla prawidłowego rozpoznania czynnika chorobotwórczego konieczne jest wykonanie dokładnej diagnozy z wykorzystaniem określonej aparatury badawczej. Klasyczne metody diagnostyki fitopatologicznej opierają się na badaniu występowania struktur morfologicznych w kulturach grzybów pozyskanych poprzez izolację oraz hodowlę czynnika chorobotwórczego na pożywkach mikrobiologicznych. Jednak efektywność diagnostyki chorób w oparciu o zastosowanie metody hodowlanej uzależniona jest od tempa wzrostu grzybnii oraz od utworzenia w pozyskanych z roślin kulturach grzybów unikatowych cech morfologicznych, umożliwiających prawidłową identyfikację patogena. To niestety przedłuża znacznie czas identyfikacji, zaś w tym okresie mogą powstawać duże szkody na plantacjach

roślin, w konsekwencji prowadząc do znaczących strat producentów. Remedium na niedoskonałość metody hodowlanej wydaje się diagnostyka molekularna, opierająca się o detekcję DNA patogenów. Techniki diagnostyki molekularnej najczęściej stosowane w fitopatologii obejmują różne warianty metody PCR, w tym SCAR PCR i PCR ilościowy - qPCR, czy sekwencjonowanie DNA. Są one uznawane za bardzo czułe, dokładne oraz skuteczne i chociaż wymagają szczegółowych procedur pobierania próbek, kosztownej infrastruktury badawczej oraz specjalistycznych odczynników to umożliwiają detekcję patogenów w fazie bezobjawowej (Martinelli i in. 2014). Mogą być także wykorzystywane w stosunku do bardzo różnorodnego materiału biologicznego (korzenie, łodygi, liście, kwiatostany, nasiona), a nawet dotyczyć gleby, wody czy też zarodników przenoszonych w atmosferze. Metody molekularne stosowane w detekcji chorób roślin oparte są na bardzo dokładnym projektowaniu starterów i sond molekularnych do sekwencji genów umożliwiających detekcję rodzajową i gatunkową, a także w stosunku do genów biorących udział w biosyntezie mykotoksyn (Niessen, 2008).

Celem badań stanowiących osiągnięcie naukowe było zastosowanie metod diagnostyki molekularnej (SCAR PCR, qPCR oraz sekwencjonowania DNA) do identyfikacji grzybów patogenicznych i toksynotwórczych występujących w materiale roślinnym obejmującym: nasiona wybranych gatunków roślin bobowatych, ziarno zbóż oraz pasze powstałe z ich przerobu, sadzonki buka, a także plantacje wierzby.

W badaniach własnych wykorzystano metody molekularne oparte na detekcji DNA różnych patogenów grzybowych: SCAR PCR, qPCR zastosowane w celu weryfikacji obecności w tkankach roślinnych/materiale roślinnym, patogena, genu odpowiedzialnego za syntezę toksyny czy też trans genu. Prace badawcze obejmowały także sekwencjonowanie DNA, zastosowane w celu identyfikacji nowych, nie opisywanych wcześniej patogenów powodujących choroby roślin w Polsce. Szczegółowy zakres metod molekularnych, z wyszczególnieniem metod ujęto w Tabeli 1.

P1. Pierwsza część osiągnięcia habilitacyjnego dotyczyła oceny stanu zdrowotnego nasion trzech gatunków łubinów pochodzących z różnych regionów Polski ze szczególnym uwzględnieniem gatunków o właściwościach toksynotwórczych

Materiał do badań stanowiły nasiona trzech gatunków łubinów: (łubin biały Butan, łubin wąskolistny Zeus, łubin żółty Mister i Perkoz) pochodzących z różnych regionów Polski

(Dolny Śląsk, Kujawy, Warmia i Mazury, Wielkopolska). Praca badawcza obejmowała ocenę zdrowotności nasion z zastosowaniem metody hodowlanej, w oparciu o charakterystykę morfologiczną grzybów. W celu porównania i oszacowania zbiorowisk grzybów patogenicznych i saprotroficznych obliczono wskaźnik relatywnej częstotliwości dla obu grup grzybów (RF). Inną strategią, z powodzeniem zastosowaną do oceny zdrowotności nasion było wykorzystanie metody SCAR PCR. Użyte w tym celu markery SCAR (Tabela 1) umożliwiły dokonanie oceny zdrowotności nasion w zakresie występowania toksynotwórczych grzybów z rodzaju *Fusarium* oraz w odniesieniu do obecności genu *Tri5*, odpowiedzialnego za syntezę trichotecenów.

W badaniach wykazano, że nasiona wszystkich badanych gatunków pochodzące z różnych regionów Polski najliczniej zasiedlone były przez gatunki *Alternaria alternata* oraz *Cladosporium cladosporioides*, a grzyby potencjalnie patogeniczne były reprezentowane przez przedstawicieli *Fusarium*, *Botrytis cinerea* oraz *Mycosphaerella lupini*. Gatunek *Colletotrichum lupini* sprawca antraknozy występował jedynie w nasionach łubinu żółtego odmiany Perkoz z rejonu Kujaw w 2013 roku.

Bardzo istotnym elementem pracy, bazującym na zastosowaniu metody PCR ze starterami specyficznymi dla *Fusarium* spp., było zidentyfikowanie obecności przedstawicieli tego gatunku w 5/10 próbach nasion różnych gatunków łubinów w 2011 roku, 6/10 w roku 2012 i 3/10 w ostatnim roku badań. Inne specyficzne gatunkowo startery umożliwiły także identyfikację: *F. avenaceum* (2/30 prób nasion), *F. poae* (2/30 prób nasion), i *F. sporotrichioides* (2/30 prób nasion).

Porównanie wyników analiz molekularnych i klasycznej diagnostyki w zakresie występowania gatunków z rodzaju *Fusarium* wskazuje, że w badanym okresie w porażeniu nasion łubinów większe znaczenie miały gatunki *F. sambucinum* i *F. tricinctum*, które zostały zidentyfikowane metodą mikroskopową. Powyższa zależność jest bardzo istotna dla praktyki ochrony roślin i jednoznacznie wskazuje na kompatybilność obu metod. Potencjalną zdolność grzybów z rodzaju *Fusarium* do produkcji mykotoksyn z grupy trichotecenów (identyfikacja genu *Tri5* odpowiedzialnego za syntezę trichotecenów) potwierdzono jedynie w 3/30 badanych próbach nasion tj., w przypadku nasion łubinu wąskolistnego odmiany Zeus w 2011 z regionu Warmii i Mazur i Kujaw oraz w nasionach tej samej odmiany w 2013 roku z Dolnego Śląska.

Tabela 1. Wykaz metod molekularnych oraz starterów/sond wykorzystanych w osiągnięciu habilitacyjnym z uwzględnieniem podziału na poszczególne prace naukowe

Publikacja:	Metoda	Gatunek (rodzaj) grzyba/gen	Sekwencja startera/sondy	Gatunek rośliny/materiał/tkanka	Literatura:
P1	SCAR PCR	<i>Fusarium</i> spp.	P58SL 5'-AGT ATT CTG GCG GGC ATG CCT GT-3' P28SL 5'-ACA AAT TAC AAC TCG GGC CCG AGA-3'	<i>Lupinus albus</i> , <i>L. angustifolius</i> , <i>L. luteus</i> /nasiona	(Hue i in. 1999)
		<i>F. avenaceum</i>	FaR 5'-CAA GCA TTG TCG CCA CTC TC-3' FaF 5'-GTT TGG CTC TAC CGG GAC TG-3'		(Doohan i in.1998)
		<i>F. culmorum</i>	Fc01F 5'-ATG GTG AAC TCG TCG TGG C-3' Fc01R 5'-CCC TTC TTA CGC CAA TCT TCT CG-5'		(Nicholson i in. 1998)
		<i>F. poae</i>	Fp28F 5'-CAAGCAAACAGGCTCTTCACC-3' Fp28R 5'-TGTTCCACCTCAGTGACAGGTT-3'		(Parry i Nicholson 1996)
		<i>F. sporotrichioides</i>	FspITS2K 5'-CTT GGT GTT GGG ATC TGT GTG CAA-3' P28SL 5'-ACA CAA CGG GCT ATA ACA CTC CCC-3'		(Kulik i in. 2004)
		<i>F. equiseti</i>	FEF1 5'-CATACCTATACGTTGCCTCG-3' FER1 5'-TTACCAGTAACGAGGTGTATG-3'		(Mishra i in. 2003)
		<i>Fusarium</i> spp. (<i>Tri5</i>)	HATrif 5'-CAG ATG GAG AAC TGG ATG GT-3' HATrir 5'-GCA CAA GTG CCA CGT GAC-3'		(Edwards i in. 2001)
P2	SCAR PCR	<i>Fusarium</i> spp.	P58SL 5'-AGT ATT CTG GCG GGC ATG CCT GT-3' P28SL 5'-ACA AAT TAC AAC TCG GGC CCG AGA-3'	<i>Triticum aestivum</i> /nasiona	(Hue i in. 1999)
		<i>F. avenaceum</i>	FaR 5'-CAA GCA TTG TCG CCA CTC TC-3' FaF 5'-GTT TGG CTC TAC CGG GAC TG-3'		(Doohan i in.1998)
		<i>F. culmorum</i>	Fc01F 5'-ATG GTG AAC TCG TCG TGG C-3' Fc01R 5'-CCC TTC TTA CGC CAA TCT TCT CG-5'		(Nicholson i in. 1998)
		<i>F. poae</i>	Poa1 5'-CTT GGTAGGGGGACAGACACGC-3' Poa2 5'-CCATTCCACGCTCGACAGACC TG-3'		(Kulik 2008)
		<i>F. sporotrichioides</i>	FspITS2K 5'-CTT GGT GTT GGG ATC TGT GTG CAA-3' P28SL 5'-ACA CAA CGG GCT ATA ACA CTC CCC-3'		(Kulik i in. 2004)
	qPCR	<i>F. poae</i>	TMpoaef 5'-GCTGAGGGTAAGCCGTCTT-3' TMpoaer 5'-TCTGTCCCCCTACCAAGCT -3' pM_Probe 5'-ATTTCCTCCAACTTCGACTCTCCGAGGA-3'		(Yli-Matilla i in. 2008)
P3	qPCR	soja transgeniczna, <i>CTP4-CP4 EPSPS</i>	RRS 01-5 5'-CCTTTAGGATTTTCAAGCATCAGTGG-3' RRS 01-3 5'-GACTTGTCGCGGGAATG-3' RRS-Taq; Fam 5'-CGCAACCGCCGCAAATCC-3' Tamra	<i>Avena sativa</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Hordeum vulgare</i> , <i>Triticosecale</i> , <i>Triticum aestivum</i> /śruta: 90% cząstek 0,5-1mm	(Mano i in. 2009)
		<i>Fusarium</i> spp. (<i>Tri5</i>)	Tri5 forward 5'-TCTTAACACTAGCGTGCGCCTTC-3' Tri5 reverse 5'-CATGCCAACGATTGTTGGAGGGA-3' FGTri5 Probe; 5'-AACAAGGCTGCCACCACTTTGCTCAGCC		(Vegi i Wolf-Hall, 2013)
		<i>P. verrucosum</i> , <i>rRNA</i>	PV_F 5'-TAAGGTGCCGGAATACACGCTCAT-3' PV_R 5'-TAGTTCATTCGGCCCGTGAGTTGT-3' PV Probe 5'-TCTAGACAGCCGACGGTGGCCATGGAAGT-		(Vegi i Wolf-Hall, 2013)
		<i>A. ochraceus</i> , <i>Pks</i>	Pks forward 5'-AGTGATGACTGGAGGGAGGTGAAT-3' Pks reverse 5'-ACGAGCATGCGGTATCAATGGTCA-3' AOPks Probe 5'-TTGTCCGGCAGGATCAGGTGCCACCATT		(Vegi i Wolf-Hall, 2013)
			AVF11 5'-CGACTCTGGCAAGTCGACCA-3' AVEF12 5'-TACCAATGACGGTGACATAG-3'		(Kulik i in. 2011)
P4	Sekwencjonowanie <i>EF1a</i>			<i>Fagus sylvatica</i> /lodyga, liść	(Kulik i in. 2011)
P5	NGS, qPCR	<i>Colletotrichum salicis</i> / <i>C. acutatum</i>	CaITS_F701 5'-GGATCATTACTGAGTTACCGC-3' CaITS_R699 5'-GCCCGCGAGAGGCTTC-3' CaITS_Probe710 5'-TACCTAACCGTTGCTTCGGCGGG-3'	<i>Salix purpurea</i> , <i>S. viminalis</i> × <i>S. schwerinii</i> /lodyga, liść	(Debode i in. 2009)

Jest to bardzo istotna informacja wskazująca na szeroką możliwość wykorzystania nasion łubinów w żywieniu zwierząt. Kolejnym elementem pracy było określenie wskaźnika częstotliwości występowania grzybów patogenicznych i saprofitycznych RF. W wyniku analiz stwierdzono, że najwyższe wartości wskaźnika częstotliwości występowania gatunków patogenicznych dotyczyły nasion łubinu białego uzyskanych z rejonu Dolnego Śląska w roku 2012 i 2013 oraz z Warmii i Mazur w roku 2011. Gatunki saprotroficzne z największą częstotliwością występowały w regionie Dolnego Śląska w roku 2013 oraz Wielkopolski i Warmii i Mazur w roku 2011. Na podstawie przytoczonych wyników wysunięto tezę, że częstotliwość występowania patogenów i saprotrofów może zależeć od warunków klimatycznych panujących w poszczególnych latach badań. Ważnym osiągnięciem pracy jest udowodnienie słuszności powyższej tezy poprzez zastosowanie analizy korelacji liniowej Pearsona, za pomocą której dowiedziono, że na względną częstotliwość występowania saprotrofów i patogenów na nasionach łubinów wpływają istotnie warunki atmosferyczne panujące w różnych regionach Polski. Analizy statystyczne potwierdziły istotny wpływ sumy opadów dla miesiąca maja ($R=0,93$) i czerwca ($R=0,59$) oraz istotny wpływ temperatur notowanych w lipcu ($R=0,84$) na częstotliwość występowania na nasionach gatunków patogenicznych. Tak więc dla zdrowotności nasion mogą być ważne warunki pogodowe panujące w fazie kwitnienia. W wyniku zastosowania analiz statystycznych wykazano, że na częstotliwość występowania gatunków saprotroficznych wpływ miały temperatury notowane w czerwcu ($R=0,57$), a w mniejszym stopniu opady. W tym wypadku zanotowano jedynie tendencję potwierdzającą nieznaczny wpływ opadów w maju na częstotliwość występowania saprotrofów ($R=0,36$).

P2. Druga praca wchodząca w skład osiągnięcia habilitacyjnego dotyczy oceny stanu zdrowotnego ziarna pszenicy ozimej odmian: Zyta i Nutka pochodzącego z doświadczenia polowego zlokalizowanego w ZPD Balcyny. Badania polowe obejmowały stosowanie ochrony fungicydowej (I zabieg epoksykonazol, krezoksym metylowy, fenpropimorf w fazie BBCH 33–35, II zabieg- dimoksystrobina+ epoksykonazol w fazie BBCH 51–53) wobec obiektu kontrolnego.

Prace laboratoryjne obejmowały zastosowanie komplementarnych metod oceny zdrowotności ziarna: klasycznej metody hodowlanej oraz PCR ze starterami specyficznymi wobec: *Fusarium* spp., *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* oraz *F. sporotrichioides* – grzybów o znaczeniu toksynotwórczym. W badaniach wykazano liczną obecność gatunku *F. poae* w ziarnie obu gatunków pszenicy. Gatunek *F. poae* uznawany jest

za mniej znaczący dla infekcji kłosów w stosunku do *F. culmorum* czy *F. graminearum*, jednak jego duże znaczenie związane jest z różnorodnością toksyn przez niego syntetyzowanych (trichoteceny A i B, bowercyna i eniatyny) (Stenglein, 2009). Znaczenie tego gatunku w warunkach Polski rośnie w latach chłodnych, kiedy nie występują gatunki *F. graminearum* i *F. culmorum*. O wzroście znaczenia *F. poae* w powodowaniu fuzariozy kłosów donosi wielu autorów (Covarelli i in. 2015, Dinolfo i Stenglein 2014, Lindblad i in. 2013). Badania wskazują także, że znaczenie gatunku w powodowaniu fuzariozy kłosów w uprawach zbóż wzrasta wraz częstotliwością stosowania fungicydów azolowych: triazoli i imidazoli (Vanheule i in. 2014, Audenaert i in. 2013).

W celu weryfikacji wpływu ochrony fungicydowej na występowanie w ziarnie DNA *F. poae* zastosowano metodę qPCR ze starterami i sondą TaqMan (Tabela 1) specyficznymi wobec tego gatunku. W oparciu o gDNA szczepu referencyjnego (*F. poae*) opracowano krzywą standardową, na podstawie której wyznaczono efektywność reakcji qPCR $E=91\%$, co pozwoliło na wykonanie dalszych analiz ilościowych w celu określenia konkretnych ilości DNA *F. poae* w poszczególnych próbach ziarna. W badaniach w oparciu o zastosowanie metody qPCR wykazano, że aplikacja fungicydów w okresie wegetacji (I zabieg epoksykonazol, krezoksym metylowy, fenpropimorf w fazie BBCH 33–35, II zabieg-dimoksyrostrobina+ epoksykonazol w fazie BBCH 51–53) znacząco ograniczyło poziom zanieczyszczenia ziarna pszenicy odmiany Zyta przez *F. poae*, na co wskazują oznaczone metodą qPCR ilości DNA. Powyższa zależność na poziomie istotnym statystycznie występowała w odniesieniu do odmiany Nutka wyłącznie w drugim roku badań. Analizy statystyczne wykazały, że wyniki ilościowej kwantyfikacji DNA patogena korespondują z wynikami analiz mikroskopowych w odniesieniu do odmiany Zyta. Zanotowano bowiem dodatnią korelację ($R = 0,61$) między ilością DNA patogena, a liczbą kolonii *F. poae*. Na podstawie analizy warunków atmosferycznych stwierdzono także, że poziom gDNA *F. poae* w ziarnie pszenicy zależał od warunków pogodowych panujących w okresie infekcji roślin pszenicy fuzariozą tj., w miesiącach maju i czerwcu. Analizy matematyczne pozwoliły także na wysunięcie ważnego wniosku, wskazującego że odnotowany na skutek infekcji kłosów wysoki udział szczepów *F. poae* w ziarnie pszenicy determinował obniżenie plonu ziarna oraz MTZ w przypadku bardziej porażonego ziarna – odmiana Zyta (odpowiednio $R=-0,68$, $R=-0,41$). W przypadku mniej porażonego ziarna odmiany Nutka nie odnotowano znaczącej redukcji plonu w związku z występowaniem izolatów *F. poae* ($R=0,04$), natomiast potwierdzono nieznaczny wpływ infekcji na redukcję MTZ ($R = -0,26$). Powyższe wyniki wskazują na znaczącą rolę gatunku *F. poae* w infekcji kłosów pszenicy ozimej w Polsce.

P3. Celem badań przeprowadzonych w ramach kolejnej pracy osiągnięcia habilitacyjnego było określenie zakresu występowania grzybów toksynotwórczych oraz ich metabolitów w mieszankach paszowych wytworzonych w gospodarstwie z własnych zbóż ze zróżnicowanym procentowym udziałem poekstrakcyjnej śruty sojowej pochodzącej z importu. Badania obejmowały porównanie efektywności metody hodowlanej oraz qPCR do oceny porażenia pasz grzybami toksynotwórczymi. W badaniach określono korelację pomiędzy zawartością gDNA grzybów toksynotwórczych a zanieczyszczeniem pasz mykotoksynami.

Analizie poddano pasze pełnoporcjowe wykorzystywane w żywieniu różnych grup produkcyjnych trzody chlewnej. We wszystkich mieszankach podstawowym składnikiem użytym do ich sporządzenia były zboża wyprodukowane w rejonie Warmii i Mazur (jęczmień, pszenica, pszenżyto, owies), zaś jako komponent białkowy zastosowano importowaną poekstrakcyjną śrutę sojową. Poszczególne komponenty pasz dobierano w proporcjach dostosowanych do zapotrzebowania pokarmowego trzody chlewnej różnych klas wiekowych: warchlaki, tuczniki, loszki, lochy w okresie jałowienia, lochy jałowe i w niskiej ciąży, lochy w okresie wysokiej ciąży i laktacji. Do analizy pasze pobierano losowo, przez okres trzech miesięcy, tworząc próbę zbiorczą 4kg (40 próbek). Pierwszy etap badań obejmował wykorzystanie metody hodowlanej w celu oceny zasiedlenia pasz grzybami pleśniowymi. Analizy molekularne polegające na wykorzystaniu techniki qPCR do wykrywania grzybów o zdolnościach do syntezy mykotoksyn w oparciu o sekwencje genów: *PKS* (*A. ochraceus*), *Tri5* (*Fusarium* spp.) oraz *rRNA* (*P. verrucosum*). Procentowy udział w paszach transgenicznej soi zweryfikowano poprzez kwantyfikację qPCR (*CTP4-CP4*). Badania obejmowały także wykrywanie mykotoksyn: trichotecenów grupy A (T-2, HT-2, DAS), trichotecenów grupy B (DON, 3-AcDON, NIV, FUS-X oraz ZEA i OTA metodą HPLC).

Z badanych pasz wyizolowano łącznie 598 izolatów grzybów należących do 21 gatunków oraz grzyby niezarodnikujące. Grzyby toksynotwórcze zidentyfikowane w paszach należały do rodzajów *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium*. Rodzaj *Fusarium* reprezentowany był przez gatunki: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. tricinctum*. Analizy qPCR wykazały obecność transgenicznej soi we wszystkich badanych paszach, a uzyskane wyniki korespondowały z procentowym udziałem soi. Na podstawie analiz qPCR stwierdzono w paszach obecność DNA *A. ochraceus*, *P. verrucosum* oraz *Fusarium* spp. produkującego trichoteceny (*Tri5*),

zaś udział w paszach poszczególnych gatunków zależał od składu pasz (udział komponentów). Prace badawcze obejmowały także wykorzystanie metody HPLC w celu weryfikacji obecności w paszach mykotoksyn. W wyniku tych analiz stwierdzono obecność OTA we wszystkich badanych paszach, ponadto stwierdzono skażenie toksyną DON, 3-AcDON, toksyną T-2 i ZEA. Ważnym elementem pracy było wykazanie na podstawie analiz statystycznych (wykonane metodą regresji liniowej), istotnej zależności pomiędzy skażeniem pasz OTA a obecnością DNA grzybów produkujących OTA $R^2=0,84$, oraz obecnością trichotecenów i DNA grzybów produkujących trichoteceny $R^2=0,74$. W oparciu o analizy statystyczne wykazałem, że obecność DNA grzybów toksynotwórczych zależała od procentowego udziału w paszach transgenicznej soi oraz dodatku zbóż. Powyższa zależność została potwierdzona za pomocą analizy rang Spearmana pomiędzy udziałem transgenicznej soi i różnych zbóż (pszenica, jęczmień, owies, pszenżyto), a zawartością mykotoksyn (DON, T2, trichoteceny ogółem) i DNA grzybów toksynotwórczych (*Fusarium* spp. – *Tri5*). W badaniach stwierdziłem występowanie korelacji pomiędzy zawartością importowanej do Polski soi transgenicznej a koncentracją DON ($R=0,93$, $p<0,0001$), całkowitą zawartością trichotecenów ($R=0,76$, $p=0,0002$) i toksyny T2 ($R=0,64$, $p=0,006$) oraz DNA *Fusarium* produkujących trichoteceny ($R=0,61$, $p=0,006$). Wykazałem także, że zanieczyszczenie pasz DON oraz toksyną T2 związane było z udziałem jęczmienia, co potwierdza wartość zanotowanych współczynników korelacji rang Spearmana wynoszących odpowiednio $R=0,50$ ($p=0,03$), $R=0,50$ ($p=0,04$). Źródłem skażenia pasz toksyną T2 na podstawie literatury mogła być również pszenica (Mankeviciene i in. 2014) jednak w tym przypadku odnotowana wartość współczynnika korelacji nie była istotna statystycznie ($R=0,26$, $p=0,31$). Udowodniłem, że skażenie pasz OTA związane było z udziałem pszenżyta ($R=0,48$, $p<0,001$), zaś udział w paszach owsa decydował o skażeniu ZEA ($R=0,50$, $p<0,001$). W oparciu o analizy statystyczne metodą regresji liniowej potwierdziłem także, skuteczność metody qPCR w ocenie zawartości w paszach transgenu *CP4-EPSPS* wobec udziału procentowego soi ($R^2=0,93$, $p<0,001$).

Przeprowadzone badania wskazały, że pasze zawierały znaczący udział mykotosyn, a analizy qPCR mogą być realnym narzędziem do oceny skażenia pasz mykotoksynami.

Ich stosownie może być ważnym elementem prewencji minimalizującym przenikanie mykotoksyn do łańcucha pokarmowego. Niewątpliwie przedstawiona praca wskazuje na ogromną przydatność metody qPCR jako narzędzia do oceny jakości (zdrowotności) materiału paszowego. Jej zastosowanie w diagnostyce konkretnych genów (*Tri5*, *CP4-EPSPS*) jest dobrym narzędziem do oceny zagrożenia skażenia pasz mykotoksynami.

P4. Kolejna praca wchodząca w skład osiągnięcia habilitacyjnego dotyczy identyfikacji nowej jednostki chorobowej w Polsce na roślinach buka zwyczajnego z wykorzystaniem techniki sekwencjonowania.

Buk (*Fagus sylvatica*) jest jednym z ważniejszych gatunków lasotwórczych w Polsce wykorzystywany do zalesiania terenów porolnych, jak i do odnowień, zaś w przypadku żyznych gleb stosuje się go do przebudowy monokultur sosnowych na drzewostany iglasto-liściaste. W 2014 roku w szkółce kontenerowej zlokalizowanej w północno-wschodniej Polsce zaobserwowano objawy zgorzeli sadzonek buka. Wskaźnik porażenia zaobserwowany dla jednej kasety (KASETA V-300, 53 cele) wynosił od 21-31%, a śmiertelność sadzonek wynosiła od 5-7%. Zakażone liście, łodygi i korzenie posłużyły jako materiał do badań laboratoryjnych mających na celu ustalenie sprawcy choroby. Z porażonych tkanek buka wyizolowano łącznie 14 izolatów, które na podstawie cech morfologicznych zidentyfikowano jako *F. avenaceum*. Kultury grzybów na pożywce PDA tworzyły obfitą biało-różową grzybnię z widocznymi na karminowym rewersie czarnymi drobnymi sklerocjami. W wyizolowanych kulturach obserwowano obecność cylindrycznych mikrokonidiów (10-25 μm) oraz makrokonidiów (50-65 $\times$ 4-4,5 μm). Jeden z pozyskanych w wyniku izolacji patogena z porażonych siewek buka - izolat (FL.Ol.35.13–42.13) posłużył do sekwencjonowania DNA (ABI Prism 310). Badania przeprowadzono z wykorzystaniem starterów rekomendowanych dla sekwencji genu *EF1 α* (Tabela 1). W wyniku prac badawczych uzyskano sekwencję fragmentu genu *EF1 α* DNA o długość 411 bp (KM985475). Analizy bioinformatyczne z wykorzystaniem narzędzia BLASTN wykazały 100% identyczność uzyskanej sekwencji DNA z sekwencjami z kilku izolatów *F. avenaceum* zdeponowanych w GenBank (HQ704072.1, EF512014.1 i HQ704073.1). Na dalszym etapie badań wykonano testy patogeniczności na siewkach buka z wykorzystaniem izolatu FL.Ol.35.13–42.13. Po 30 dniach od infekcji oszacowano występowanie objawów chorobowych. Silnie porażone rośliny zamierały, natomiast w przypadku porażenia w mniejszym stopniu na liścieniach obserwowano strefowane plamy ze skupieniami sporodochiów. Przeprowadzona reizolacja sprawcy choroby z porażonych fragmentów liści umożliwiła ponowną identyfikację *F. avenaceum* na podstawie cech morfologicznych. Zaprezentowane w pracy wyniki badań, uzyskane za pomocą technik molekularnych, stanowią pierwszy w Polsce opis infekcji siewek buka zwyczajnego przez *F. avenaceum*.

P5. Celem badań było określenie sprawcy antraknozy wierzby (*Salix purpurea*, *S. viminalis* × *S. schwerini*) w północno-wschodniej Polsce.

W czerwcu 2016 roku na młodych pędach wierzby (*Salix purpurea*, *S. viminalis* × *S. schwerini*) uprawianej na plantacji w okolicach Olsztyna obserwowano występowanie zamierania wierzchołków pędów. Na wysokości około 150-170 cm na pędach widoczne były brązowe do czarnego przebarwienie kory, które z czasem obejmowało nekrozą całość pędu położonego powyżej miejsca powstania pierwotnego objawu chorobowego. Występowanie charakterystycznych symptomów chorobowe obserwowano na 2-3 pędach, przy czym poziom infekcji plantacji zależał od gatunku wynosząc od 50-70% w przypadku *S. viminalis* × *S. schwerini* oraz 20-30% na plantacji *S. purpurea*. W celu identyfikacji patogena powodującego objawy chorobowe, materiał do badań (pędy wierzby, 3-5 sztuk z jednej rośliny) pobrano w 5 miejscach planacji. Z pędów wykazujących objawy chorobowe przeprowadzono izolację patogena z wykorzystaniem metody hodowlanej. Wyrósłe kolonie posiadały szarą grzybnię powietrzną, a w kulturach stwierdzono obecność konidiów o wymiarach: 11-17x3-5µm (n=50). Na podstawie charakterystyki morfologicznej gatunek zidentyfikowano jako *C. acutatum* (Damm et al. 2012). Dla potwierdzenia przynależności systematycznej z uzyskanych izolatów wybrano reprezentatywny szczep SP17/2016, z którego wyizolowane DNA stanowiło matrycę do sporządzenia bibliotek za pomocą zestawu Naxtera XT. Identyfikację gatunku przeprowadzono metodą Sekwencjonowania Nowej Generacji (NGS), z użyciem platformy MiSeq (Illumina INC, USA). Uzyskane sekwencje DNA zostały opisane z wykorzystaniem analiz bioinformatycznych, a następnie zdeponowano je w GenBank NCBI. Identyfikację gatunku przeprowadzono w oparciu o sekwencje sześciu genów: *HSFb 1* (heat shock factor binding protein 1), oksydazy cytochromu C, *UBE2* (ubiquitin-conjugating enzyme E2), monooksygenazy p450, syntazy glutationowej, oksydoreduktazy NADH za pomocą narzędzia BLASTn. W wyniku analiz bioinformatycznych stwierdzono 100% podobieństwo w obrębie 4 badanych genów oraz 99% podobieństwo *HSFb 1* i *UBE2* do zdeponowanych w NCBI sekwencji *C. salicis*. Dla potwierdzenia patogeniczności wykorzystano izolat SP17/2016, którego zarodniki nanoszono na pędy (*S. purpurea* i *S. viminalis*) w doświadczeniu szklarniowym, na młode sadzonki wierzby. Pierwsze objawy chorobowe na pędach (nekrozy) widoczne były po około 7 dniach od infekcji. Obecność *C. salicis* potwierdzono przez izolację metodą hodowlaną z mikroskopową obserwacją struktur morfologicznych oraz metodą qPCR (Debode i in. 2009). Wykazanie występowania objawów chorobowych powodowanych przez *C. salicis*

na roślinach wierzby jest ważnym odkryciem naukowym odnotowującym nowy gatunek patogena w Polsce. Zaprezentowane powyżej dwie ostatnie prace badawcze, wykonane w ramach osiągnięcia habilitacyjnego, wpisują się w nurt badań z zakresu diagnostyki fitopatologicznej, obejmujących określanie nowych patogenów, rejestrowanie nowych żywicieli patogenów oraz ich przemieszczenia się w obrębie poszczególnych krajów. Realizacja badań tego typu ma na celu porządkowanie danych z całego świata, co można wykorzystać do tworzenia map zasięgu patogenów, prezentujących aktualną sytuację dotyczącą występowania groźnych chorób roślin. Badania z tego zakresu prowadzone są coraz częściej z wykorzystaniem techniki sekwencjonowania nowej generacji (NGS), która dostarcza ogromnej ilości danych o sekwencjach DNA patogenów, gromadzonych w bazie GenBank (NCBI). Jest to niezwykle istotne, ponieważ mogą być one w przyszłości wykorzystane w realizacji innych prac badawczych.

Podsumowanie

- W osiągnięciu habilitacyjnym wykazano przydatność metody SCAR PCR do oceny zdrowotności nasion na przykładzie wybranych gatunków łubinów pochodzących z różnych regionów Polski (P1).
- Na podstawie analiz matematycznych potwierdzono wpływ warunków pogodowych panujących w okresie wegetacji na częstotliwość występowania grzybów patogenicznych i saprotroficznych zasiedlających nasiona łubinów (P1).
- Wskazano przydatność metody SCAR PCR jako testu do oceny zdrowotności ziarna (P2).
- Udowodniono użyteczność metody qPCR do oceny efektywności ochrony fungicydowej na przykładzie oceny zdrowotności ziarna pszenicy (P2).
- Wykazano korelację pomiędzy liczbą kultur uzyskanych metodą hodowlaną, a ilością DNA określoną metodą qPCR w odniesieniu do infekcji ziarna pszenicy przez *F. poae* oraz komplementarność obu metod diagnostycznych (P2).
- Wykazano wpływ naturalnej infekcji kłosów *F. poae* (qPCR) na znaczące obniżenie plonu oraz MTZ pszenicy ozimej (P2).
- Wskazano użyteczność metody qPCR jako narzędzia do badania potencjalnego skażenia pasz mykotoksynami: DON, T2 i OTA (P3).
- W oparciu o analizy matematyczne potwierdzono istnienie korelacji pomiędzy zawartością DNA grzybów toksynotwórczych, a poziomem mykotoksyn: OTA i trichotecenów ogółem w paszach (P3).
- Wskazanie importowanej transgenicznej soi jako źródła skażenia pasz mykotoksynami (DON, T2) (P3).
- Odkrycie i opisanie nowego gatunku zgorzelowego w Polsce *F. avenaceum* w uprawie kontenerowej buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica*) w oparciu o sekwencjonowanie DNA oraz testy patogeniczności (P4).
- Opisanie po raz pierwszy w Polsce *Colletotrichum salicis* jako sprawcy antraknozy wierzby na podstawie sekwencjonowania nowej generacji (NGS), analizy qPCR oraz testu patogeniczności (P5).

Wskazanie ewentualnego wykorzystania wyników

Na podstawie zaprezentowanych w niniejszym opracowaniu wyników badań można stwierdzić, że analizy molekularne stanowią nieodzowny element diagnostyki fitopatologicznej w prewencji roślin przed chorobami. Mogą być stosowane do oceny stanu zdrowotnego roślin na różnych etapach wzrostu i rozwoju, w opracowaniu charakterystyk odporności odmianowej roślin uprawnych, a także w ocenie aktywności fungicydów wobec konkretnych patogenów. Tego typu wyniki mogą być także wykorzystane do opracowania nowoczesnych programów ochrony roślin, ponieważ w oparciu o badania molekularne można dokonywać wyboru najlepszych substancji aktywnych i na tej podstawie rekomendować je do wykorzystania w konkretnych uprawach, wobec określonych patogenów. Jest to niezwykle istotny element prewencji chorób, ponieważ w ostatnim czasie na całym świecie obserwuje się duży udział genotypów patogenów odpornych na fungicydy. W oparciu o analizy molekularne można odkrywać i charakteryzować nowe jednostki chorobowe, co jest niezwykle istotne ze względu na stosunkowo łatwe przemieszczanie materiału biologicznego związane z migracjami ludzi oraz ze wzrostem importu produktów roślinnych. Ważnym elementem wykorzystania zaprezentowanych badań w praktyce jest wskazanie możliwego wykorzystania metod molekularnych do oceny przydatności pasz w żywieniu zwierząt w kontekście diagnostyki grzybów toksynotwórczych. Na podstawie analiz qPCR można bowiem wyeliminować z produkcji zwierzęcej pasze, w dużym stopniu zanieczyszczone mykotoksynami. Takie analizy powinny stać się istotnym elementem rutynowo wykonywanych prac badawczych, ponieważ ich niższe koszty (w stosunku do metod chromatografii) mogą decydować o szerszym ich wykorzystaniu. Usankcjonowanie prawne stosowania ochrony roślin w oparciu o monitoring (integrowana ochrona roślin) wymaga od ustawodawcy opracowania realnego systemu oceny zagrożenia ze strony agrofagów w stosunku do profesjonalnie prowadzonych gospodarstw rolnych i leśnych. Powyżej przedstawione tezy wskazują, że laboratoria prowadzące badania z zakresu diagnostyki molekularnej powinny stać się ważnym elementem takiego systemu.

Literatura:

- Audenaert K., Vanheule A., Höfte M., Haesaert G., 2013. Deoxynivalenol: a major player in the multifaceted response of *Fusarium* to its environment. *Toxins* 6: 1-19.
- Covarelli L. , Beccari G. , Prodi A. , Generotti S. , Etruschi F. , Juan C. , Ferrer E. Mañes J. 2015. *Fusarium* species, chemotype characterisation and trichothecene contamination of durum and soft wheat in an area of central Italy. *J. Sci. Food Agric.*, 95: 540-551. doi:[10.1002/jsfa.6772](https://doi.org/10.1002/jsfa.6772)
- Damm U. , Cannon P.F., . Woudenberg J.H.C, Crous P.W. 2012. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73:37-113. <https://doi.org/10.3114/sim0010>.
- Debode J. , Van Hemelrijck W. , Baeyen S. , Creemers P. , Heungens K. Maes M. 2009. Quantitative detection and monitoring of *Colletotrichum acutatum* in strawberry leaves using real-time PCR. *Plant Pathology*, 58: 504-514. doi:[10.1111/j.1365-3059.2008.01987.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01987.x)

- Desprez-Loustau M-L., Courtecuisse R., Robin C., Husson C., Moreau P-A., Blancard D., Selosse M-A., Lung-Escarmant B., Piou D., Sache I., 2010: Species diversity and drivers of spread of alien fungi (sensu lato) in Europe with a particular focus on France. – *Biological Invasions*, 12: 157–172.
- Dinolfo M.I., Stenglein S.A. 2014. *Fusarium poae* and mycotoxins: Potential risk for consumers. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 49: 5–20.
- Doohan F.M., Parry D.W., Jenkinson P., Nicholson P. 1998. The use of species – specific PCR – based assays to analyse *Fusarium* ear blight of wheat. *Plant Pathology*, 47: 197–205. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3059.1998.00218.x>
- Edwards S.G., Pirgozliev S.R., Hare M.C., Jenkinson P. 2001. Quantification of trichoteceneproducing *Fusarium* species in harvested grain by competitive PCR to determine efficacies of fungicides against *Fusarium* head blight of winter wheat. *Appl Environ Microbiol.* 67(4):1575–1580. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.4.1575-1580.2001>.
- Hue F-X., Huerre M., Rouffault M.A., de Bievre C., (1999), Specific detection of *Fusarium* species in blood and tissues by a PCR technique, *Journal of Clinical Microbiology*, 37, 2434–2438.
- Kulik T. 2008. Development of duplex PCR assay for the simultaneous detection of *F. poae* and *F. sporotrichioides* from wheat. *J. Plant Pathol.* 90(3): 441–447.
- Kulik T., Fordoński G., Pszczółkowska A., Płodzień K. Łapiński M. 2004. Development of PCR assay based on ITS2 rDNA polymorphism for the detection and differentiation of *Fusarium sporotrichioides*. *FEMS Microbiology Letters*. 239: 181–186.
- Kulik T., Jestoi M., Okorski A. 2011. Development of TaqMan assays for the quantitative detection of *Fusarium avenaceum*/*Fusarium tricinctum* and *Fusarium poae* *esyn1* genotypes from cereal grain. *FEMS Microbiology Letters*. 314 (1):49–56.
- Lindblad M, Gidlund A, Sulyok M, Börjesson T, Krska R, Olsen M, et al. 2013. Deoxynivalenol and other selected *Fusarium* toxins in Swedish wheat—occurrence and correlation to specific *Fusarium* species. *Int J Food Microbiol.* 167:284–291. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro. 2013.07.002.
- Mano J., Shigemitsu N., Futo S., Akiyama H., Teshima R., Hino A., Furui S., Kitta K. 2009. Real-Time PCR Array as a Universal Platform for the Detection of Genetically Modified Crops and Its Application in Identifying Unapproved Genetically Modified Crops in Japan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (1), 26–37. DOI: 10.1021/jf802551h
- Martinelli, F., Scalenghe, R., Davino, S. et al. 2015. Advanced methods of plant disease detection. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 35(1):1–25 <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0246-1>.
- Mishra P.K., Fox R.T.V., Culham A. 2003. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*. *FEMS Microbiol Lett.* 218:329–332. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2003.tb11537.x>
- Motiejūnaitė J., Markovskaja S., Kutorga E., Iršėnaitė R., Kasparavičius J., Kačergius A., Lygis V. 2017. Alien fungi in Lithuania: List of species, current status and trophic structure. *BOTANICA LITHUANICA*. 23(2): 139–152.
- Nicholson P., Simpson D. R., Weston G., Rezanoor H. N., Lees A. K., Parry D. W., Joyce D. 1998. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 53: 17–37.
- Niessen L. 2008. PCR-Based Diagnosis and Quantification of Mycotoxin-Producing Fungi. *Advances in Food and Nutrition Research* 54(1–2):81–138.
- Parry D.W., Nicholson P. 1996. Development of a PCR assay to detect *Fusarium poae* in wheat. *Plant Pathol.* 45:383–391. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1996.d01-133.x>
- Sache i in. 2011. Invasive plant pathogens in Europe. In book: *Biological invasions: Economic and environmental costs of alien plant, animal, and microbe species*, Second Edition, Publisher: CRC Press, London, Editors: David Pimental.
- Santini A., Ghelardini L., De Pace C., Desprez-Loustau M–L., et, al. 2013: Biogeographical patterns and determinants of invasion by forest pathogens in Europe. – *New Phytologist*, 197: 238–250.
- Steinglein, 2009. *Fusarium Poae*: a pathogen that needs more attention. *J. Plant Pathol.*, 91 (1), 25–36.
- Vanheule A., Audenaert K., De Boevre M. Landschoot, S., Bekaer B., Munaut F., et. al. 2014. The compositional mosaic of *Fusarium* species and their mycotoxins in unprocessed cereals, food and feed products in Belgium. *International Journal of Food Microbiology*, 181:2836. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.012>.
- Vegi A., Wolf-Hall C. E. 2013. Multiplex Real-Time PCR Method for Detection and Quantification of Mycotoxigenic Fungi Belonging to Three Different Genera. *Journal of Food Science*, 78: M70–M76. doi: [10.1111/j.1750-3841.2012.03008.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.03008.x)
- Yli-Mattila T., Paavanen-Huhtala S., Jestoi M., Parikka P., Hietaniemi V., Gagkaeva T., Sarlin T., Haikara A., Laaksonen S., Rizzo A. 2008. Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* in cereal grains in Finland and Russia. *Arch. Phytopathology Plant Protect.* 41(4): 243–260. <http://dx.doi.org/10.1080/03235400600680659>.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych:

5.1. Wybrane elementy technologii uprawy różnych roślin uprawnych z uwzględnieniem oceny zdrowotności oraz zbiorowisk grzybów

W 2002 roku rozpocząłem pracę badawczą w zespole kierowanym przez prof. dr hab. Barbarę Majchrzak, w którym realizowałem badania dotyczące wpływu różnych elementów agrotechniki na zdrowotność zbóż: pszenicy ozimej i jarej. Prace badawcze obejmowały ocenę wpływu różnych przedplonów z rodziny kapustowatych (rzepak jary, gorczyca biała, gorczyca sarepska, rzodkiew oleista, lnianka siewna, katroń abisyński i owies jako kontrola) oraz zagospodarowania resztek poźniwnych (przyorana ścierna, przyorana słoma ze ściernią, przyorana słoma ze ściernią i dawką azotu), na zdrowotność pszenicy jarej (B.1.1, B.1.2, B.1.13) i ozimej (B.1.4, B.1.5). W wyniku badań stwierdzono, że korzystnie wpływającymi na zdrowotność liści i kłosów pszenicy jarej przedplonami okazały się: owies, gorczyca sarepska i rzodkiew oleista (B.1.1). Najlepszym przedplonem, korzystnie wpływającym na zdrowotność korzeni i podstawy źdźbła pszenicy były: lnianka siewna i gorczyca sarepska (B.1.2). Nie wykazano wpływu sposobu zagospodarowania resztek poźniwnych na choroby liści i kłosów (B.1.1), podstawy źdźbła i korzeni (B.1.2). Dalsze prace badawcze tego zespołu dotyczyły oceny składu ilościowego zbiorowisk grzybów zasiedlających korzenie i podstawy źdźbła pszenicy jarej (B.1.13). W badaniach wykazano, że na skład gatunkowy zbiorowisk grzybów wpływ miały rośliny przedplonowe oraz sposób zagospodarowania resztek poźniwnych. Z korzeni pszenicy jarej wyizolowano łącznie 551 kolonii grzybów, wśród nich grzyby z rodzaju *Fusarium* stanowiące 30,5% wszystkich izolatów. Dominowały takie gatunki jak: *F. equiseti*, *F. culmorum* i *F. oxysporum*. Na podstawach źdźbeł rodzaj *Fusarium* stanowił 69% wszystkich izolatów, zaś najliczniej reprezentowanymi gatunkami były: *F. avenaceum* (40,6% wszystkich izolatów), *F. culmorum* (9,5%) i *F. equiseti* (8,4%). Dodatkowa dawka azotu zastosowana przed przyoraniem ścierni ze słomą powodowała spadek ogólnej liczebności izolowanych grzybów, a zwłaszcza grzybów z rodzaju *Fusarium* (B.1.13). Kolejne prace badawcze dotyczyły oceny stanu zdrowotnego pszenicy ozimej, w zależności od wymienionych powyżej elementów agrotechniki. W badaniach wykazano, że najlepszym przedplonem ograniczającym zgorzele korzeni i podstawy źdźbła pszenicy ozimej był rzepak jary i gorczyca biała, natomiast najgorszym owies. Wykazano istotnie wyższy wpływ przedplonów w stosunku do warunków pogodowych panujących w okresie wegetacji na zdrowotność korzeni i podstawy źdźbła (B.1.4.). W kontynuacji badań wykazano wpływ roślin przedplonowych na porażenie liści i kłosów, zwłaszcza septoriozą (B.1.5).

Na liściach pszenicy występowały: septoriozy, mączniak prawdziwy zbóż i traw oraz rdza brunatna. Najsilniej septoriozą porażona była pszenica uprawiana po owsie (liść flagowy – 24,3%, kłos 13,4%), a najsłabiej po rzepaku jarym (liść flagowy – 14,6%, kłos – 5,6%) i lniance (B.1.5). W kolejnych badaniach uczestniczyłem w ocenie składu zbiorowisk grzybów zasiedlających środowisko glebowe i korzenie jarych roślin kapustowatych (B.1.10, B.1.14). Na podstawie analiz mykologicznych stwierdzono, że najliczniejsze i najbardziej zróżnicowane zbiorowisko grzybów wyizolowano ze środowiska glebowego rzepaku jarego. Najmniej liczne zbiorowiska grzybów zasiedlały ryzosferę i ryzoplanę lnianki siewnej i katrana abisyńskiego. W środowisku glebowym jarych roślin kapustowatych dominowały gatunki z rodzaju *Mucoraceae* (B.1.14). W badaniach wykazano, że korzenie roślin kapustowatych zasiedlone były w głównej mierze przez przedstawicieli rodzaju *Fusarium* (59%, wszystkich wyizolowanych kultur). Najliczniej izolowano gatunki *F. solani* i *F. oxysporum*. *Fusarium* najliczniej występowały na korzeniach lnianki siewnej, najmniejszy udział miały na korzeniach rzepaku jarego (B.1.10). W kolejnych badaniach analizowano skład gatunkowy zbiorowisk grzybów i bakterii zasiedlających środowisko glebowe dwóch odmian pszenicy (Roma i Sakwa) (B.1.6). W badaniach stwierdzono, że w środowisku glebowym pszenicy ozimej dominowały grzyby z rodzaju *Penicillium*, ponadto wykazano że wielkość populacji *Pseudomonas* spp. zależała od fazy rozwojowej pszenicy. Kolejne badania, w realizacji których uczestniczyłem, dotyczyły oceny zdrowotności ziarna jęczmienia browarnego (B.1.17), owsa (B.1.22) i orzeszków gryki (B.1.23) w zależności od ochrony fungicydowej. W badaniach wykazano, że zaprawianie orzeszków gryki fungicydem przyczyniło się do zwiększenia plonu. Nasiona gryki zostały skolonizowane głównie przez grzyby z gatunku *Alternaria alternata*, a w mniejszej ilości przez grzyby z rodzaju *Fusarium* (B.1.23). Zastosowanie ochrony fungicydowej korzystnie wpływało na plon oraz elementy struktury plonu owsa. Zabieg poprawił także zdrowotność ziarna poprzez ograniczenie liczebności występowania grzybów z rodzaju *Fusarium* (B.1.22). Ocena zdrowotności ziarna jęczmienia browarnego wykazała, że głównymi patogenami grzybowymi dla obu odmian były: *A. alternata* oraz *Fusarium* spp. (B.1.17). Przedłużenie okresu przechowywania ziarna do pięciu miesięcy spowodowało wzrost udziału gatunków chorobotwórczych. Największą liczebność grzybów z rodzaju *Fusarium* wykazano w ziarnie pochodzącym z obiektów, w których zastosowano ½ dawki azoksystrobiny, natomiast najbardziej efektywna dla zdrowotności ziarna jęczmienia okazała się intensywna ochrona fungicydowa (Dubelt + Corbel + Amistar + Artea) (B.1.17). Kolejne badania, w których uczestniczyłem jako wykonawca obejmowały ocenę zdrowotności jęczmienia w siewie

czystym i mieszanym z grochem. W badaniach wykazano korzystny efekt uprawy mieszanej jęczmienia jarego z grochem siewnym, bo ograniczał nasilenie objawów plamistości siatkowej jęczmienia (*Helminthosporium teres*), choć sprzyjał rozwojowi chorób podsuszkowych wywołanych przez *Fusarium* spp. oraz *Tapesia yallundae* (B.1.20).

Realizując tematykę badawczą związaną z technologią upraw różnych gatunków roślin uczestniczyłem również w badaniach realizowanych w Katedrze Diagnostyki i Patofizjologii Roślin, które obejmowały określenie wskaźników wymiany gazowej pszenicy ozimej (B.1.9, B.1.16) i jarej (A.1.4, B.1.19), pod wpływem różnych czynników agrotechnicznych oraz w warunkach stresu wodnego. Wykazano, że na wartość wskaźnika fotosyntezy u pszenicy jarej wpływ miało zastosowane nawożenie azotem oraz warunki pogodowe (A.1.4). W oparciu o analizy statystyczne wykazano ujemną korelację pomiędzy plonem pszenicy a intensywnością fotosyntezy liści (BBCH 39-41) oraz dodatnią korelację odnotowaną dla plonu vs. fotosynteza kłosów w fazie BBCH 56-57 i 59-61. Następnie w kolejnych fazach rozwojowych pszenicy tendencja ta uległa zmianie, a w fazie BBCH 65–69 zanotowano korelację ujemną. W badaniach wykazano, że aktywność fotosyntezy liścia flagowego zmniejszała się od fazy 39-41 BBCH do 52-55 BBCH, a w późniejszym okresie ich funkcję przejęły kłosa. Te unikalne wyniki badań wskazały więc ważną funkcję fotosyntezy kłosa w formowaniu plonu ziarna (A.1.4). W kolejnych badaniach wykonywanych w tym zespole badawczym wykazano, że deficyt wody spowodował obniżenie elementów struktury plonu pszenicy jarej (B.1.19) i ozimej (B.1.9, B.1.16) uprawianych w warunkach stresu wodnego oraz wskaźników wymiany gazowej (fotosynteza, transpiracja, przewodność szparkowa, międzykomórkowe stężenie CO₂, ponadto zanotowano nieco wyższe zasiedlenie ziarna pszenicy jarej patogenami grzybowymi o zdolnościach toksynotwórczych (*Fusarium* i *Penicillium*) w obiektach z niedoborem wody (B.1.19). W przypadku pszenicy ozimej nie stwierdzono jednoznacznego wpływu deficytu wody na zdrowotność ziarna (B.1.9). W ramach omawianej tematyki badawczej uczestniczyłem także w pracach zespołu badawczego kierowanego przez prof. dr hab. Gabriela Fordońskiego nad oceną właściwości przedplonowych roślin strączkowych (A.1.6, A.1.9). Wyniki badań pozwoliły na wskazanie najwyższego plonowania (spośród różnych gatunków roślin bobowatych) oraz najwyższego poziomu białka ogółem dwóch form bobiku (samokończący i tradycyjny) w warunkach uprawy w Polsce północno-wschodniej. Analizy składu chemicznego nasion pokazały, że nasiona bobików charakteryzowały się wysoką zawartością potasu, fosforu, miedzi i cynku, zaś łubinu wąskolistnego zawierały najwięcej wapnia, magnezu i manganu. W badaniach jako najlepsze przedplony dla rzepaku ozimego wskazano

bobik smokończący i groch. W nasionach rzepaku uprawianego po bobiku samokończącym ujawniono wyższą tendencję do gromadzenia azotu, fosforu, wapnia, miedzi, żelaza i cynku w stosunku do innych przedplonów (A.1.6). Kolejne prace badawcze potwierdziły korzystne właściwości przedplonowe bobiku smokończącego na plonowanie i skład chemiczny nasion rzepaku ozimego i wykazano zwiększoną istotnie zawartość mikroelementów w nasionach rzepaku ozimego w odpowiedzi na wzrost dawek nawozów azotowych (A.1.9).

W kolejnym zespole badawczym realizowałem zadanie dotyczące oceny zdrowotności pszenicy jarej i ozimej po zastosowaniu bionawozów z popiołu i kości (A.1.6), granulowanych bionawozów fosforowych uzyskanych z popiołu ze spalania osadów ściekowych i kości zwierzęcych z dodatkiem bakterii solubilizujących fosfor *Acidithiobacillus ferrooxidans* (A.1.11) oraz *Bacillus megaterium* (A.1.15, A.1.19). Zadanie badawcze było elementem szerszego zakresu prac, w których oceniano oddziaływanie wyżej wymienionych czynników na obsadę roślin po wschodach, krzewienie ogólne i produkcyjne, długość źdźbła, liczbę liści na roślinie, wymiary liścia, długość kłosa, masę ziarna z kłosa, wyleganie. W wyniku prac badawczych określono nasilenie: 1. chorób podstawy źdźbła: fuzariozy (*Fusarium* spp.), łamliwości źdźbła zbóż i traw (*Tapesia yallundae*), ostrej plamistości oczkowej (*Rhizoctonia cerealis*); 2. chorób liści: mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis*), septoriozy (*Zymoseptoria tritici*); 3. chorób kłosów: septoriozy plew (*Stagonospora nodorum*), fuzariozy (*Fusarium* spp.) i czerni kłosów (*Cladosporium* spp. + *Alternaria* spp. + *Epicoccum* spp.). W badaniach nie wykazano związku nasilenia chorób z nawożeniem fosforem, wykazano brak negatywnego wpływu bionawozów na wyleganie i stopień zachwaszczenia upraw. Konkluzją wynikająca z tych badań było stwierdzenie, że nowe nawozy nie ustępowały nawozom komercyjnym we wpływie na elementy struktury plonu. Mogą więc stanowić alternatywę wobec nawozów powstałych ze źródeł nieodnawialnych, pod warunkiem że nie pogorszą jakości surowca rolniczego oraz będą bezpieczne dla środowiska (A.1.6, A.1.11, A.1.15, A.1.19).

5.1.1 Wnioski:

- Przedplonami korzystnie wpływającymi na zdrowotność liści i kłosów pszenicy jarej są: owies, gorczyca sarepska i rzodkiew oleista (B.1.1).
- Najlepszymi przedplonami pszenicy jarej z punktu widzenia zdrowotności podstawy źdźbła jest lnianka siewna i gorczyca sarepska (B.1.2).
- Przyoranie ścierni z dodatkową dawką azotu ścierni ogranicza występowanie grzybów patogenicznych na korzeniach pszenicy jarej (B.1.13).

- Najlepszymi przedplonami, ograniczającym zgorzele korzeni i podstawy źdźbła pszenicy ozimej są: rzepak jary i gorczyca biała, zaś choroby liści i kłosów: rzepak jary (B.1.4, B.1.5).
- Występowanie *Pseudomonas* spp. w środowisku glebowym pszenicy ozimej zależy od fazy rozwojowej (B.1.6).
- Analiza składu gatunkowego grzybów zasiedlających środowisko glebowe jarych roślin kapustowatych wykazała obecność najliczniejszego i najbardziej zróżnicowanego zbiorowiska grzybów z najmniejszym udziałem gatunków patogenicznych na korzeniach rzepaku jarego (B.1.10, B.1.14).
- Zaprawianie orzeszków gryki fungicydami powoduje wzrost plonu gryki oraz ograniczenie występowania *Fusarium* (B.1.23).
- Ochrona fungicydowa korzystnie wpływa na elementy struktury plonu oraz wielkość plonu owsa, jednocześnie ogranicza porażenie ziarna przez *Fusarium* (B.1.22).
- Najbardziej efektywna dla zwiększenia zdrowotności ziarna jęczmienia browarnego jest intensywna ochrona fungicydowa. Przedłużenie okresu przechowywania ziarna do pięciu miesięcy powoduje wzrost udziału gatunków chorobotwórczych (*Fusarium*) (B.1.17).
- Mieszana uprawa jęczmienia jarego z grochem siewnym ogranicza nasilenie plamistości siatkowej jęczmienia, zaś sprzyja rozwojowi chorób podsuszkowych wywołanych przez *Fusarium* spp. oraz *Tapesia yallundae* (B.1.20).
- Aktywność fotosyntetyczna liścia flagowego pszenicy jarej zmniejsza się od fazy 39-41 BBCH, zaś od pełni kłoszenia jego rolę w kształtowaniu plonu rolniczego przejmują kłosy (A.1.4).
- Deficyt wody powoduje obniżenie elementów struktury plonu oraz wskaźników wymiany gazowej pszenicy jarej i ozimej. Na skutek niedoboru wody zwiększa się skażenie ziarna patogenami grzybowymi o zdolnościach toksynotwórczych (*Fusarium* i *Penicillium*) (B.1.9, B.1.16, B.1.19).
- Bobik samokończący i groch są najlepszymi przedplonami rzepaku ozimego. Wzrost nawożenia azotem powoduje zwiększenie zawartość mikroelementów w nasionach rzepaku. W warunkach Polski największy plon białka ogółem daje bobik samokończący i tradycyjny (A.1.6, A.1.9).
- Bionawozy fosforowe uzyskane z popiołu ze spalania osadów ściekowych i kości zwierzęcych z dodatkiem bakterii solubilizujących fosfor pod względem użytkowym nie ustępują nawozom komercyjnym, bowiem nie mają negatywnego wpływu na zdrowotność, zachwaszczenie oraz elementy struktury plonu pszenicy ozimej i jarej (A.1.6, A.1.11, A.1.15, A.1.19).

5.2. Biologiczna ochrona roślin

Klasyczna koncepcja biologicznej ochrony roślin sformułowana przez Bekera i Cooka (1974) w ostatnim czasie uległa znaczącym zmianom. Biologiczna ochrona roślin przed chorobami opiera się w głównej mierze na stosowaniu mikrobiologicznych czynników biologicznej ochrony (MBCAs), których stosowanie na terenie Wspólnoty Europejskiej

regulowane jest przez dyrektywy 91/414/EEC oraz 2001/36/EC. Ogólne założenia, mechanizmy oraz najczęściej stosowane w biologicznej ochronie roślin przez chorobami organizmy żywe, zostały przedstawione w dwóch autorskich opracowaniach przeglądowych dotyczących zastosowania preparatów biologicznych w rolnictwie (B.1.8) i szkółkach leśnych (B.1.25). Moje prace badawcze z tego zakresu obejmowały określenie możliwości zastosowania Efektywnych Mikroorganizmów (EM) w ochronie roślin przed chorobami na przykładzie modelowej rośliny-grochu (B.1.7, B.1.11, B.1.12., B.1.18., B.1.21). W badaniach wykazano korzystny wpływ aplikacji preparatu EM1 na skład ilościowy i jakościowy populacji grzybów zasiedlających ryzosferę i ryzoplanę grochu siewnego (B.1.7). W kolejnej z tego cyklu pracy wykazano, że dogłębne zastosowanie preparatu biologicznego EM ograniczało występowanie patogenów grzybowych na roślinach grochu (B.1.11). W oparciu o analizę korelacji liniowej Pearsona stwierdzono zmniejszenie tempa fotosyntezy ($R = -0,52$) i transpiracji ($R = -0,74$) na skutek infekcji roślin grochu patogenem *Peronospora viciae* (B.1.11). Zaprezentowana w następnej pracy analiza składu gatunkowego grzybów zasiedlających nasiona grochu wykazała, że trzykrotna aplikacja preparatu EM ograniczyła występowanie grzybów z rodzaju *Fusarium* (B.1.12). Analiza fitopatologiczna tkanek roślin grochu w warunkach infekcji naturalnej wykazała obecność grzybów: *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma medicaginis* var. *pinodella*, *Mycosphaerella pinodes* i *Botrytis cinerea* (B.1.18). Znaczącą redukcję występowania grzybów patogenicznych na porażonych roślinach grochu odnotowano w obiekcie, w którym stosowano biopreparat w połączeniu z ochroną fungicydową (B.1.18). W kolejnej związanej z tym nurtem pracy wykazano efektywność dogłębnej aplikacji preparatu biologicznego EM w połączeniu z ochroną chemiczną w zwalczaniu fuzaryjnego wędnięcia grochu (*F. oxysporum*) (B.1.21). Taki sposób ochrony korzystnie wpływał na plonowanie grochu oraz wskaźniki wymiany gazowej. Wykazano że nasilenie fuzaryjnego wędnięcia grochu ograniczyło parametry wymiany gazowej liści grochu oraz liczbę nasion z rośliny.

Obecnie w ramach omawianego nurtu badawczego prowadzę badania dotyczące wykorzystania szczepów *Bacillus amyloliquefaciens* w biologicznej ochronie grochu przed zgorzelową plamistością oraz w ochronie szkółek leśnych przed chorobami zgorzelowymi. Powyższe prace realizowane są w zespole badawczym z naukowcami IBL w Sękocinie Starym, Université de Neuchâtel w Szwajcarii oraz Katedry Fizjologii, Biotechnologii i Genetyki Roślin UWM w Olsztynie. Kolejna praca badawcza z tego zakresu zgłoszona do druku (Forest Pathology) omawia wykorzystanie wodnego ekstraktu żołądziowego

(odpadu poprodukcyjnego) o wysokiej zawartości związków fenolowych wobec patogenów powodujących choroby zgorzelowe: *Phytophthora* i *Fusarium*.

W badaniach w warunkach *in vitro* wykazano fungistatyczne właściwości różnych stężeń ekstraktu wobec 20 patogenów drzew leśnych i roślin uprawnych (w druku). Wstępne wyniki badań przeprowadzonych w szkółce kontenerowej nie wykazały negatywnego wpływu 1% stężenia ekstraktu żołądziowego na wzrost sadzonek kontenerowych.

5.2.1 Wnioski

- Doglebowe zastosowanie EM wpływa korzystnie na zbiorowiska grzybów zasiedlających ryzosferę, ryzoplanę i korzenie grochu (B.1.7).
- Zastosowanie preparatu biologicznego EM bezpośrednio do gleby ogranicza występowanie patogenów grzybowych na roślinach grochu (B.1.11).
- Trzykrotna aplikacja preparatu EM ogranicza występowanie grzybów rodzaju *Fusarium* na nasionach grochu (B.1.12).
- Stosowanie biopreparatu EM w połączeniu z ochroną fungicydową powoduje znaczącą redukcję występowania grzybów patogenicznych na porażonych roślinach grochu (B.1.18).
- Doglebowa aplikacja EM w połączeniu z ochroną chemiczną jest efektywna w ograniczeniu fuzaryjnego wędnięcia grochu (*F. oxysporum*), wpływa także korzystnie na aktywność fotosyntetyczną roślin (B.1.21).

5.3. Badania nad występowaniem chorób drzew leśnych

Badania reprezentujące nurt badawczy związany z leśnictwem obejmują wyniki przedstawione w pracy dotyczącej zamierania drzewostanów jesionu w rezerwacie Wolica (A.1.11). W wyniku analiz fitopatologicznych z porażonych drzew wyizolowano 28 izolatów *Hymenoscyphus fraxineus* i 27 izolatów *Phytophthora* spp. W oparciu o analizy fitopatologiczne i molekularne z wykorzystaniem sekwencjonowania regionu ITS oraz analizy PCR wyróżniono w obrębie *Phytophthora* następujące gatunki: *P. megasperma*, *P. hungarica* i *P. plurivora*. Jest to pierwsze doniesienie o występowaniu *P. megasperma*, *P. hungarica* w Polsce. Badania realizowano w międzynarodowym zespole badawczym w skład którego wchodził naukowcy IBL Sękocin Stary oraz przedstawiciel Wydziału Leśnictwa i Technologii Drewna, Uniwersytet Mendla w Brnie.

W innych badaniach z tego zakresu realizowanych w zespole badawczym UWM w Olsztynie określono występowanie *Colletotrichum fiorinae* na sadzonkach buka uprawianych w szkółce kontenerowej oraz w uprawach leśnych (A.1.12). Powyższe badania

przeprowadzono w oparciu o analizy morfologii pozyskanych kultur grzybowych oraz z wykorzystaniem techniki NGS. W ramach badań związanych z tematyką leśną uczestniczyłem w pracach dotyczących określenia występowania patogenicznych grzybów na sadzonkach dębu w uprawach leśnych zlokalizowanych na terenie RDLP w Olsztynie (B.1.26). W badaniach wykazano zasiedlenie części podziemnej i nadziemnej sadzonek przez szybko rosnące gatunki grzybów, wśród których duże znaczenie miały *Fusarium avenaceum* oraz *Cylindrocarpon* spp.. W mniejszym zakresie występowały *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. sambucinum*, *F. solani* oraz *Botrytis cinerea* i *Erysiphe alphitoides*.

Następna praca reprezentująca leśny nurt badawczy dotyczyła określenia podatności Polskich proveniencji sosny zwyczajnej na porażenie przez *Fusarium circinatum* sprawcę raka sosny (PCC) w stosunku do Polskich szczepów reprezentujących gatunki atakujące sadzonki w szkółkach leśnych (A.1.16). W badaniach prowadzonych w doświadczeniu szklarniowym testowano przedstawicieli sześciu polskich gatunków rodzaju *Fusarium* oraz *F. circinatum* wobec sadzonek pochodzących z 16 polskich proveniencji. W badaniach wykazano wysoką podatność wszystkich linii sosny na *F. circinatum* oraz zróżnicowaną podatność w stosunku do gatunków rodzimych. Jedynie gatunek *F. oxysporum* powodował wysoką śmiertelność sadzonek 62,5 %–66,7 %, zaś w przypadku niższego poziomu infekcji powodował częściowe ich więdnienie oraz uszkodzenie korzeni (79,4 % – 88,7 %). Średnią śmiertelność sadzonek powodował *F. tricinctum*, w przypadku którego obserwowano zamieranie 12,5 % – 20,8 %. Prace badawcze zaprezentowane w powyższym opracowaniu zrealizowane były przez międzynarodowy zespół badawczy koordynowany przez przedstawiciela IBL dr hab. Tomasza Oszko prof. IBL, zaś w jego skład wchodził przedstawiciel: Kharkiv State Zooveterinary Academy, Ukraina; University of Aveiro, Portugalia; University of Valladolid–INIA, Hiszpania; ponadto w pracach zespołu uczestniczyli naukowcy z IOR w Poznaniu i UKSW w Warszawie.

Kolejny rozważany problem badawczy (A.1.17), dotyczył określenia zakresu występowania grzybów powodujących choroby zgorzelowe sadzonek drzew iglastych (sosny i świerka) w gruntowych i kontenerowych szkółkach leśnych z wykorzystaniem metody hodowlanej oraz metody SCAR PCR. Badania prowadzono w czterech gospodarstwach szkółkarskich (dwóch kontenerowych oraz dwóch gruntowych) wytypowanych przez Regionalną Dyрекcję Lasów Państwowych w Olsztynie. Materiał do badań stanowiły sadzonki sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*) i świerka pospolitego (*Picea abies*). Zastosowanie metody SCAR PCR, w celu określenia występowania w badanym materiale patogenicznych grzybów z rodzajów *Fusarium*, *Cylindrocarpon* oraz lęgniowców *Phytophthora*, potwierdziło wysoką czułość

metody w diagnozowaniu obecności patogenego DNA. Ważnym osiągnięciem pracy było wykazanie obecności DNA patogenów w próbach, w których nie wykrywano ich metodą hodowlaną. Na podstawie analiz SCAR PCR stwierdzono, że *Fusarium* wykrywano w większości prób pochodzących ze szkółek kontenerowych, zaś *Phytophthora* występowały wyłącznie w szkółkach gruntowych. W badaniach potwierdzono także infekcję korzeni i części nadziemnej obu badanych gatunków drzew przez *Cylindrocarpon destructans*. Analizy SCAR PCR ujawniły, że DNA patogena częściej występowało w tkankach sosny niż świerka. W graficznej projekcji analizy PCA przedstawiono podobieństwo i różnice między badanymi zbiorowiskami grzybów zasiedlających korzenie i część nadziemną sosny z uwzględnieniem pochodzenia materiału do badań. Analiza PCA, dotycząca charakterystyki grzybów zasiedlających korzenie sosny wykazała, że w szkółkach kontenerowych w przypadku obu badanych gatunków drzew dominowały gatunki o znaczeniu typowo rolniczym: *F. tricinctum*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*. W przypadku szkółek gruntowych stwierdzono znaczący udział w zbiorowiskach gatunków antagonistycznych *Trichoderma*, *Gliocladium* oraz *Mortierella*, z wysokim współudziałem gatunków patogenicznych z rodzajów *Fusarium*, *Phytophthora* i *Pestalotia*. Na podstawie badań stwierdzono, że w poszczególnych latach badań zbiorowiska grzybów podlegały zmianom ilościowym i jakościowym, co jest wynikiem wpływu warunków atmosferycznych, zabiegów agrotechnicznych, a także wynika z cyklu życiowego grzybów. Analiza porównawcza bogactwa gatunkowego (Richness index) oraz różnorodności gatunkowej (Shannon diversity index) grzybów zasiedlających sadzonki badanych gatunków, wykazała wysokie wartości wskaźników we wszystkich próbach (świerk i sosna) pochodzących ze szkółek gruntowych. Ważnym wnioskiem wysuniętym na podstawie wykonanych prac badawczych było wykazanie, że korzenie i część nadziemną zarówno sosny, jak i świerka pochodzące ze szkółek kontenerowych charakteryzowały się niskim bogactwem gatunkowym grzybów oraz niskim wskaźnikiem różnorodności Shannona.

Kolejne opracowanie porusza problematykę stosowania ochrony chemicznej w zwalczaniu chorób roślin w szkółkarstwie leśnym (B.1.25). W pracy przeglądowej opisano preparaty dopuszczone do stosowania w leśnictwie na podstawie przepisów krajowych. W analizie uwzględniono mechanizmy oddziaływania substancji aktywnych na patogeny, oceniono także potencjalną skuteczności w przypadku konkretnych chorób i patogenów. W pracy przeanalizowano także ewentualną możliwość występowania odporności grzybów i lęgniowców na fungicydy, która może wystąpić, np. na skutek przenoszenia patogenów z upraw rolniczych, w których fungicydy stosowane są w większym zakresie.

5.3.1 Wnioski

- Wskazanie *Hymenoscyphus fraxineus* jako sprawcy zamierania drzewostanów jesionu w rezerwacie Wolica. Odkrycie występowania *Phytophthora. megasperma* i *P. hungarica* w Polsce (A.1.11).
- Określenie sprawcy plamistości liści i łodyg buka (*Colletotrichum fioriniae*) w szkółkach i uprawach leśnych (A.1.12).
- Najważniejsze gatunki patogeniczne występujące na sadzonkach w uprawach leśnych RDLP Olsztyn to: *Fusarium avenaceum* oraz *Cylindrocarpon* spp., *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. sambucinum*, *F. solani*, *Botrytis cinerea*, *Erysiphe alphitoides* (B.1.26).
- Wykazanie wysokiej podatności 16 polskich proveniencji sosny na *Fusarium circinatum* sprawcę raka sosny. Określenie wysokiej i średniej śmiertelności sadzonek sosny na skutek infekcji polskimi szczepami *Fusarium* (*F. oxysporum* i *F. tricinctum*) pochodzącymi z upraw rolniczych (A.1.16).
- Wskazano przydatności metody SCAR PCR jako ważnego elementu prewencji w praktyce szkółkarskiej wobec patogenów powodujących choroby zgorzelowe (A.1.17).
- Określono różnice w różnorodności zbiorowisk grzybów zasiedlających sadzonki sosny i świerka uprawianych w szkółkach kontenerowych i gruntowych w północno-wschodniej Polsce, wskazując na mniejszą różnorodność zbiorowisk sadzonek kontenerowych (A.1.17).
- Wykazano duże znaczenie patogenów związanych z roślinami rolniczymi: *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides* i *F. tricinctum* jako potencjalnych sprawców chorób zgorzelowych w szkółkach kontenerowych (A.1.17).

5.4. Mechanizmy molekularne biosyntezy mykotoksyn oraz odporności roślin na patogeny grzybowe

Jednym z ważnych wątków mojej działalności naukowej była realizacja prac badawczych dotyczących charakterystyki genetycznej grzybów toksynotwórczych z uwzględnieniem genów odpowiedzialnych za syntezę toksyn. Powyższe zainteresowanie naukowe zaowocowało pozyskaniem przeze mnie w 2009 roku projektu badawczego MNiSW N N310 085936 pt: „Diagnostyka Real-Time PCR grzybów z rodzaju *Fusarium* wytwarzających eniatyny”. Projekt był realizowany w zespole badawczym z dr hab. Tomaszem Kulik, prof. UWM oraz dr Mariką Jestoi (Evira Finlandia). Na podstawie sekwencji DNA genu *esyn1* kodującego syntazę eniatynową opracowano zestawy starterów i sond umożliwiających identyfikację genotypów *F. avenaceum*/*F. tricinctum* oraz *F. poae* (A.1.1), które są uważane za najważniejszych producentów eniatyn. Specyficzność opracowanych zestawów starterów i sond przetestowano na 111 izolatach różnych gatunków *Fusarium* o różnym pochodzeniu geograficznym. Ustalono efektywność opracowanych markerów molekularnych E=98,5 i E=99,8 i limit detekcji reakcji qPCR: 19 pg i 0,3 pg dla genotypu *F. avenaceum*/*F. tricinctum* i *F. poae*. W oparciu o analizę statystyczną

wykazano korelację pomiędzy zawartością eniatyn, a ilością DNA *F. avenaceum*/*F. tricinctum* ($R=0,61$) oraz *F. poae* ($R=0,42$) w próbkach ziarna pszenicy ozimej (A.1.1). Z tą tematyką badawczą wiążą się kolejne badania realizowane w Katedrze Diagnostyki i Patofizjologii Roślin UWM w Olsztynie, w których oceniano wpływ naturalnych fitoestrogenów z grupy lignanów na ekspresję genów *Tri4*, *Tri5* and *Tri11* *F. graminearum* (A.1.3). W teście wykonanym metodą zatrutych podłoży wykazano inhibicję pięciu szczepów *F. graminearum* wobec dwóch stężeń pinorezinołu i sekoizolarycyrezinołu. Analizy RT-qPCR genów *TRI* uczestniczących w pierwszych etapach szlaku biosyntezy trichotecenów wykazały obniżenie poziomów mRNA genów *TRI* w hodowlach *in vitro* grzybów. W oparciu o analizy GC-MS potwierdzono ograniczoną akumulację toksyn w hodowlach z dodatkiem lignanów. W oparciu o analizy statystyczne wykazano dodatnią korelację pomiędzy poziomem transkryptów *TRI*, a zawartością trichotecenów oraz ujemną korelację między koncentracją pinorezinołu i sekoizolarycyrezinołu, a zawartością trichotecenów w pożywce PDA (A.1.3).

W latach 2009-2013 roku byłem wykonawcą w projekcie MNiSW N N310 166837- "Wpływ stresów biotycznych i abiotycznych na ekspresję genów amoniako-liazy fenyloalaniny (*PAL*) u różnych odmian grochu siewnego (*Pisum sativum* L.)". Projekt wykonywany był w Katedrze Fizjologii i Biotechnologii Roślin UWM w Olsztynie pod kierownictwem dr. Dariusza Michalczyka. W toku realizacji projektu powstała praca, w której przedstawiono wyniki zróżnicowanej reakcji 8 ośmiu odmian grochu siewnego na infekcję powodowaną przez *Mycosphaerella pinodes* (askochytoza) (A.1.2). Zaplanowane badania obejmowały przeprowadzenie ścisłego eksperymentu szklarniowego, w którym rośliny 8 odmian grochu infekowano zarodnikami izolatu 165/T *M. pinodes*. W wyniku analiz fitopatologicznych stwierdzono, że najbardziej podatną na porażenie była odmiana Polar, zaś odmiana Walor charakteryzowała się najmniejszą wrażliwością. Jednocześnie z eksperymentem szklarniowym realizowano prace badawcze oparte na analizach molekularnych, w których zsekwencjonowano fragment genu *PSPAL1* u ośmiu odmian grochu. Analiza sekwencji ujawniła obecność u pięciu odmian (Ezop, Ramrod, Polar, 6 tygodniowy, Midoriusui) motywu TTATTACAAAATATTA zlokalizowanego w sąsiedztwie box-u Goldberg-Hogness (TATA), a u pozostałych odmian wykazano jego brak (Cud Kalvedonu, Kiler, Telefon, Walor). Na tej podstawie i w oparciu o wyniki analiz fitopatologicznych dalsze badania dotyczące poziomu ekspresji genu *PSPAL1* prowadzono na czterech odmianach (Ezop Polar, Ramrod, Walor), różniących się wrażliwością na askochytozę. Analizy qPCR wykazały ekspresję badanego genu na różnym poziomie

we wszystkich analizowanych organach (korzeń, łodyga i liść). Najwyższy względny poziom transkryptów *PsPAL1* występował w liściach, czyli miejscu infekcji, przy czym najmniej podatna na askochytozę odmiana Walor charakteryzowała się najwyższym względnym poziomem ekspresji bezpośrednio po inokulacji zarodnikami *M. pinodes*, najbardziej wrażliwa odmiana Polar wykazywała opóźnienie aktywacji transkryptów *PSPAL1*. Na podstawie analiz statystycznych wykazano, że istnieje ujemna korelacja pomiędzy wartością indeksu chorobowego, a względnym poziomem ekspresji *PsPAL1* w liściach ($R=-0,53$) wskazująca, że odmiany najmniej podane wykazują najwyższy poziom transkryptów *PsPAL1*. Na podstawie analiz ekspresji wykazano także, że informacja o infekcji przekazywana jest poza miejsce infekcji do innych tkanek roślinnych (A.1.2).

5.4.1 Wnioski

- Opracowanie zestawów starterów i sond do diagnostyki qPCR genotypów *F. avenaceum*/*F. tricinctum* i *F. poae* w oparciu o sekwencje genu *esyn1* kodującego syntezę eniatynową (A.1.1).
- Wykazanie antygrzybowej aktywności lignanów (pinorezinolu i sekoizolarycyrezinolu), obniżenia poziomów mRNA genów *TRI* oraz akumulacji trichotecenów w warunkach *in vitro* (A.1.3).
- Wykazanie związku mniejszej wrażliwości odmian grochu z szybkością i wysokim poziomem tkankowej aktywacji ekspresji *PsPAL1* w miejscu infekcji oraz przekazywania informacji o infekcji do innych tkanek roślinnych, poza miejsce infekcji (A.1.2).

5.5. Genomika chloroplastowa i mitochondrialna

W ostatnim czasie nastąpił intensywny rozwój technik sekwencjonowania, co zaowocowało dużą ilością sekwencji DNA różnych organizmów publikowanych w skali świata. Badania własne reprezentujące omawiany nurt badawczy zostały przedstawione w publikacjach A.2.1., A.2.2. oraz A.1.14. Prezentują one pionierskie wyniki dotyczące poznania kompletnych sekwencji genomów mitochondrialnych grzybów: *Mycosphaerella pinodes*-sprawcy zgorzelowej plamistości grochu, *Colletotrichum lupini*- sprawcy antraknozy łubinów oraz charakterystyki genomu chloroplastowego kolobanta (*Colobanthus apetalus*). Realizacja prac badawczych z tego zakresu umożliwia analizę zmian ewolucyjnych w oparciu o analizy bioinformatyczne w stosunku do przedstawicieli innych gatunków, których genomy zostały zdeponowane w GenBank (NCBI). Zespół badawczy KEFiDM, w którego pracach uczestniczę zsekwencjonował także kompletne genomy mitochondrialne innych grzybów:

Colletotrichum fioriniae, *C. tamarilloi*, *C. salicis*, które zostały zdeponowane w bazie NCBI i w oparciu o które, aktualnie przygotowywana jest do druku praca dotycząca filogenetyki rodzaju *Colletotrichum*. Ten zespół badawczy podjął się również poznania sekwencji genomów mitochondrialnych patogenów drzew leśnych: *Phytophthora polonica* i *Ilyonectria destructans*. Wyniki tych badań posłużyły do przygotowania przeze mnie projektu badawczego pt: „Identyfikacja genów patogeniczności u wybranych gatunków z rodzaju *Phytophthora*”, którego celem jest identyfikacja oraz opracowanie struktury genów patogeniczności przedstawicieli rodzaju *Phytophthora* o małych zdolnościach patogenicznych: *P. polonica* oraz *P. lacustris* w porównaniu do gatunku wykazującego zdolności patogeniczne - *P. pini*. Przypuszcza się, że mniejsze zdolności patogeniczne mogą wynikać ze specjalizacji żywicielskiej, a także z mutacji w obrębie określonych genów lub/i z braku ich funkcjonalności. Wstępne wyniki badań, które uzyskałem, dotyczące *P. polonica* wskazują na obecność modyfikacji sekwencji genu *NPP1* (in/del) o wielkości 21 nukleotydów, obecność pojedynczej mutacji typu in/del genu elicitory o wielkości 45 nukleotydów oraz dwóch mutacji in/del o długościach 15 i 18 nukleotydów względem homologów. Zaplanowane prace badawcze zakładają także weryfikację funkcjonalności genów zaangażowanych w infekcję w oparciu o analizy ekspresji pięciu zidentyfikowanych genów zaangażowanych w procesy infekcyjne techniką qPCR.

5.5.1 Wnioski

- Opracowanie charakterystyki genomów mitochondrialnych: *Colletotrichum lupini* sprawcy antraknozy łubinów oraz *M. pinodes* sprawcy askochytozy grochu, patogenów powodujących chorób o dużym znaczeniu gospodarczym (A.2.1, A.2.2).
- Opracowanie pełnego genomu chloroplastowego kolobanta (*Colobanthus apetalus*) (A.1.14).

6. Podsumowanie dotychczasowego dorobku i działalności naukowej (szczegółowe zestawienie i opis dorobku zawarte są w załączniku nr 6)

6.1. Analiza bibliometryczna

Analiza bibliometryczna mojego dorobku naukowego, z pominięciem osiągnięcia habilitacyjnego wskazuje, że składa się on: z 17 publikacji z listy A, na łączną sumę 370 punktów MNiSW i o łącznym IF=22,108, z 26 prac oryginalnych z listy B o łącznej punktacji -140 pkt. MNiSW, jednej monografii naukowej (25 pkt.), 2 prac umieszczonych w bazie Web of Science spoza Listy MNiSW. Podsumowując mój aktualny dorobek naukowy to 50 prac

oryginalnych i jedna monografia naukowa o łącznej sumie 654 punktów (IF=29,796). W wyniku prowadzenia prac badawczych z zakresu sekwencjonowania DNA opublikowałem jako autor i współautor 7 pełnych genomów mitochondrialnych oraz jeden chloroplastowy, a także 237 sekwencje DNA genów oraz fragmentów genów różnych gatunków grzybów i bakterii. Jestem autorem i współautorem 7 referatów na konferencjach naukowych, 4 posterów na konferencjach międzynarodowych i 14 posterów na konferencjach krajowych.

6. 2. Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne

Od momentu zatrudnienia w Katedrze Diagnostyki i Patofizjologii Roślin UWM do chwili obecnej uczestniczyłem w 9 projektach badawczych. W latach 2009-2011 byłem kierownikiem projektu badawczego MNiSW „Diagnostyka Real-Time PCR grzybów z rodzaju *Fusarium* wytwarzających eniatyny”. W kolejnych latach uczestniczyłem w trzech projektach badawczych MNiSW jako wykonawca (Załącznik 6). Brałem udział także w projekcie pn. „*Ulepszanie rodzimych źródeł białka roślinnego, ich produkcji, systemu obrotu i wykorzystania w paszach*” finansowanym przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, w zadaniach: HOR 3.3.3 „*Rolnicza i ekonomiczna waloryzacja przedplonów strączkowych w uprawie zbóż i rzepaku*” oraz HOR 3.6 „*Monitoring ważniejszych patogenów grzybowych nasion oraz potencjału toksynotwórczego u wybranych gatunków nasion roślin strączkowych pochodzących z różnych rejonów Polski*”. W toku dalszej kariery naukowej uczestniczę jako wykonawca w realizacji kolejnego programu badawczego Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi pt. „*Zwiększenie wykorzystania krajowego białka paszowego dla produkcji wysokiej jakości produktów zwierzęcych w warunkach zróżnicowanego rozwoju*” w zadaniach : **HOR 103/3.3.3/OB3/** „*Rozmieszczenie roślin w łanie a rozwój, plonowanie i jakość nasion najplenniejszych odmian grochu, bobiku, łubinu i soi w różnych regionach kraju*”, **HOR 103/3.6.3/OB3/** „*Opracowanie technologii uprawy soi z uwzględnieniem warunków regionalnych kraju*”, **HOR 103/3.4.1/OB3/2016** „*Efekty stosowania bioregulatorów oraz diagnostyka patogenów grzybowych zasiedlających nasiona roślin strączkowych uprawianych w warunkach integrowanej ochrony roślin*”

Działalność dydaktyczną w zakresie popularyzacji nauki rozpocząłem w październiku 2002 roku, jeszcze jako uczestnik Dziennych Studiów Doktoranckich na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa UWM w Olsztynie. Od tego czasu do chwili obecnej prowadziłem ćwiczenia dla kierunku Rolnictwo z przedmiotów: Fitopatologia (ćwiczenia), Metody diagnostyczne w patofizjologii roślin (ćwiczenia), Elementy bioinformatyczne w diagnostyce molekularnej chorób roślin (ćwiczenia), Elementy

bioinformatyczne w fitopatologii molekularnej (ćwiczenia). Działalność dydaktyczną realizowałem także prowadząc ćwiczenia dla kierunku Ogrodnictwo: Metody diagnostyczne w patofizjologii roślin (ćwiczenia), Elementy bioinformatyczne w diagnostyce molekularnej chorób roślin (ćwiczenia) oraz dla kierunku Ochrona Środowiska: Diagnostyka molekularna w ochronie roślin (ćwiczenia), Genetyka populacji i diagnostyka molekularna w leśnictwie (ćwiczenia), Gatunki wskaźnikowe w leśnictwie (wykłady, ćwiczenia). W trakcie zatrudnienia na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim uczestniczyłem w tworzeniu Laboratorium Diagnostyki Molekularnej Katedry Diagnostyki i Patofizjologii Roślin. Zdobyte doświadczenie naukowe, a także wyniki badań własnych wykorzystywałem w pracy dydaktycznej, a także uczestnicząc w opracowaniu programów z przedmiotów realizowanych w jednostce zatrudnienia. Swoje kwalifikacje doskonaliłem na dwóch stażach naukowych oraz jednym naukowo-dydaktycznym w jednostkach krajowych: Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie, Instytucie Badawczym Leśnictwa oraz Zamiejscowym Wydziale Leśnym Politechniki Białostockiej w Hajnówce, gdzie w 2014 roku prowadziłem zajęcia z przedmiotu Laboratorium z fitopatologii leśnej. Brałem również udział w 6-miesięcznym stażu naukowym w ramach programu „Od pomysłu do innowacji” przy wsparciu Olsztyńskiego Parku Naukowo-Technologicznego – staże naukowców w przedsiębiorstwach Warmii i Mazur”. Kwalifikacje naukowe podnosiłem uczestnicząc w 6 warsztatach i kursach naukowych dotyczących: techniki Real-Time PCR, sekwencjonowania NGS oraz mikroskopii fluorescencyjnej (Załącznik 6). Od 2011 roku wielokrotnie czynnie uczestniczyłem w organizowanych na UWM w Olsztynie Dniach Nauki i Sztuki oraz Europejskiej Nocy Naukowców. Prowadziłem zajęcia i warsztaty dla dzieci i młodzieży o następującej tematyce: Świat grzybów mikroskopowych, Grzyby w polu i lesie, CSI w świecie roślin, Niezwykły świat grzybów. Od 2018 roku współrealizuję program Szkoła partnerska, w ramach którego prowadziłem zajęcia dla uczniów klas trzecich Technikum Chemicznego im. Jędrzeja Śniadeckiego w Olsztynie, pt.: Diagnostyka molekularna grzybów pleśniowych w środowisku. Wykonałem recenzje 6 oryginalnych prac twórczych w międzynarodowych i krajowych czasopismach naukowych: Forest Pathology (2 publikacje, IF: 1,547), Crop & Pasture Science (1 publikacja, IF: 1,804), Environmental Engineering and Management Journal (1 publikacja, IF: 1,334), Folia Forestalia Polonica (2 publikacje). Jestem promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim: mgr inż. Aliny Chareńskiej, data wszczęcia: 24.05.2018, temat pracy doktorskiej: „Zdrowotność ziarna wybranych odmian pszenicy ozimej uprawianych w różnych regionach Polski”. Od 2014 roku byłem promotorem 3 prac magisterskich i 8 inżynierskich realizowanych na Wydziale

Kształtowania Środowiska i Rolnictwa. Aktualnie pod moim kierunkiem wykonywane są badania do 7 prac inżynierskich (WKŚiR UWM) i 2 magisterskich (Wydział Biologii i Biotechnologii UWM). W 2016 roku zostałem powołany decyzją Rektora UWM w Olsztynie na Opiekuna Naukowego Studenckiego Koła Naukowego „Biohazard”. W 2018 roku decyzją Dziekana WKŚiR zostałem powołany na Opiekuna Roku studiów I stopnia kierunku Rolnictwo. W trakcie pracy zawodowej wielokrotnie uczestniczyłem w pracy Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej oraz Punktu Obsługi Kandydata UWM w Olsztynie (4-krotnie). W latach 2008-2012 pełniłem funkcję planisty odpowiedzialnego za układanie planu dla kierunków: Rolnictwo i Ochrona Środowiska – studia niestacjonarne. Od 1.10.2016 roku pełnię funkcję członka Wydziałowej Komisji ds. Oceny Nauczycieli Akademickich. Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego i Polskiego Towarzystwa Leśnego. W trakcie pracy na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie byłem 2 krotnie nagradzany przez Rektora UWM: Nagrodą Zespołową II stopnia – za osiągnięcia w dziedzinie naukowej (2015 r.) oraz Nagrodą Indywidualną III stopnia – za osiągnięcia organizacyjne (2016 r.).

26.11.2018 r.

Adam
Ochorski