

Opole, 27 listopad 2016 r.

dr hab. Sławomir Sokół, profesor UO
Samodzielna Katedra Biosystematyki
Wydział Przyrodniczo – Techniczny
Uniwersytet Opolski

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani Mgr Dagny Maculewicz pt.:
„Charakterystyka dwujądrowych przedstawicieli rodzaju *Rhizoctonia*”**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani Magister Dagny Maculewicz pt.: „Charakterystyka dwujądrowych przedstawicieli rodzaju *Rhizoctonia*” została wykonana w Samodzielnej Katedrze Biotechnologii i Biologii Molekularnej pod kierunkiem Pani dr hab. Ewy Moliszewskiej, prof. UO. Przewód doktorski został wszczęty uchwałą właściwej Rady Wydziału w dniu 21 kwietnia 2011 wg. obowiązującej wtedy Ustawy o Stopniach Naukowych i Tytule naukowym (wg. „starych zasad”).

Rozprawę stanowi broszura składająca się z 153 ss. – tekst zasadniczy + 5 ss. – aneksy; w sumie 158 ss. komputeropisu. W tekście włamane są ryciny (ryc.) w liczbie 49 i tabele (tab.) – 20; literatura obejmuje – 149 pozycji. Układ pracy jest poprawny, typowy dla wieloaspektowej pracy empirycznej.

Tytuł rozprawy: „Charakterystyka dwujądrowych przedstawicieli rodzaju *Rhizoctonia*” w zasadniczy sposób odzwierciedla zawartą w niej treść.

Uwaga1: Można by dyskutować czy słowo „charakterystyka” użyte w tytule pracy jest do końca trafne. Autorka dokonuje zabiegu analizy taksonomicznej (w oparciu o porównanie wybranych regionów ITS rybosomalnego DNA) porządkując w ten sposób grupę dwujądrowych organizmów należących do rodzaju *Rhizoctonia* (BNR). Taka procedura pozwala na klasyfikowanie organizmów, a to już znacznie więcej niż sama charakterystyka poszczególnych izolatów (por. Rozdział 5.6: „Konstrukcja drzewa filogenetycznego obrazującego pokrewieństwo badanych BNR”; ss. 72-77). Można jednak przyjąć, że „charakterystyka” jest w tym przypadku szczególnym synonimem klasyfikacji (= klasyfikacja jako meta-cecha).

Rozdział 1 – „Wstęp i cel pracy” (ss. 10-11), liczy 2 strony. W rozdziale tym Autorka w zwięzły i trafny sposób uzasadnia sensowność podjęcia badań i stawia cel badawczy. Cytuje kilka powstałych już, istotnych dla tego zagadnienia pozycji literaturowych i wymienia niedostatki zastanego „porządku” w grupie BNR; z tego wyprowadza wniosek, że trzeba ten (jak stan rzeczy określa Autorka) „pewnego rodzaju bałagan” uporządkować. Jako cel wskazując „(...) opisanie izolatów pochodzących z gleb Polski (...)”. nie wspominając, że elementy tej charakterystyki posłużyły również do konstrukcji „drzewa filogenetycznego”. Przy doprecyzowaniu zagadnienia charakterystyki grupy (zgodnie z uwagą 1) uzasadnienie podjęcia programu badawczego i cel pracy określone są poprawnie.

Rozdział 2 – „Przegląd literatury” (por. ss.: 12-33; liczy 22 strony). Przegląd literatury jest bogaty, wielowątkowy i mogłoby się wydawać, że zbyt obszerny. Autorka przedstawia m.in. historię badań nad rodzajem *Rhizoctonia*, morfologię, metody molekularne w klasyfikacji *Rhizoctonia* spp. oraz elementy ekologii. Co istotne, definiuje najważniejsze pojęcie: „dwujądrowe *Rhizoctonia* spp.” (ss. 22-23); definiuje także pojęcia pokrewne np. „grupy anastomozujące BNR”. Uważne wczytanie się w treść tego rozdziału sprawia, że zaczynamy rozumieć jak skomplikowane są relacje, w tym także powiązania taksonomiczne w tej ważnej gospodarczo grupie grzybów (grzyby te są pospolitymi patogenami) i jak istotny jest temat, który podjęto, tym bardziej, że charakterystyka nie sprowadziła się do samej morfologii, jak to było w pracach klasycznych, ale wykorzystano również szereg testów biochemicznych i molekularnych.

Uwaga 2: dla celów późniejszej publikacji można by pomyśleć aby ten rozdział wprowadzający nieco skrócić(?).

Uwaga 3: w kraju brak ujednoliconego polskiego nazewnictwa (nomenklatury) rodzaju *Rhizoctonia* i gatunków doń należących; może szkoda, że Autorka nie odniosła się również do tego problemu(?).

Rozdział 3 – „Materiały” (ss. 34-38), liczy 5 stron. Rozdział zawiera wykaz izolatów (badanych) w liczbie 51 i testerowych (używanych do reakcji anastomozowania) – 29, a także listę roślin (żywicielskich do testowania wirulencji) oraz spis używanych podłoży. Konstrukcja tego rozdziału jest poprawna.

Uwaga 4: spis odczynników umieszczono w aneksach – strony końcowe pracy (ss. 156-158).

Rozdział 4 – „Metody” (ss. 39-60), liczy 22 strony. Rozdział poświęcony metodom badawczym jest rozbudowany – składa się aż z 17 podrozdziałów. Świadczy to o wieloaspektowości i wieloetapowości podjętych badań. Szczególnie istotne jest to, że Autorka sporządziła charakterystyki morfologii anamorf na podstawie oryginalnych badań własnych

liczebnej kolekcji pobranej z krajowych populacji. Dokonała też analizy sekwencji reprezentatywnego odcinka ITS rDNA – co pozwoliło na określenie relacji podobieństw pomiędzy izolatami badanych organizmów, zaś wyniki opracowała statystycznie (za pomocą programu Statistica i Excel). Pozostałe poruszane w pracy wątki nie są może tak ważne, ale bez wątpienia stanowią także określony przyczynek do poznania biologii tej ciekawej grupy grzybów; tworzą pełny obraz relacji w tej grupie. Autorka używała nowoczesnych metod, dobranych w sposób przemyślany.

Uwaga 5: niektórzy statystycy odradzają zastosowanie programu Excel do wykonywania operacji matematycznych.

Uwaga 6: sformułowanie określenia roli ekologicznej wydaje się trochę zbyt ogólne w przypadku testowania interakcji z roślinami modelowymi (np. s. 48).

Uwaga 7: zamiast sformułowania „relacje filogenetyczne” używałbym innego – „podobieństwo” (m.in. s. 44).

Rozdział 5 – „Wyniki” (ss. 61-118), licząc 58 stron jest najobszerniejszy; w tekst włamane są ryciny – ryc. 14-48 (35 ryc., niekiedy są to zestawy wielu fotografii) oraz tabele – tab. 10-20 (21 tabel), rozdział składa się z 15 podrozdziałów. W rozdziale tym zapoznajemy się z różnymi aspektami biologii izolatów dwujądrowych (BNR) zebranych z krajowych populacji będących formami anamorficznymi organizmów należących do rodzaju *Rhizoctonia*.

W rozdziale „Wyniki” zapoznajemy się m.in. z następującymi zagadnieniami: - morfologii anamorf zgrupowanych w kolekcji (m. in. poznajemy charakterystykę kultur *in vitro*, wraz z cechami charakterystycznymi grzybnii), - wpływu temperatur na wzrost i rozwój *Rhizoctonia* spp., - możliwości uzyskania stadium teleomorficznego BNR, - ustalenia przynależności systematycznej BNR metodami molekularnymi, - przynależności badanych izolatów BNR do grup anastomozujących, - konstrukcji drzewa (filogenetycznego) obrazującego podobieństwo w obrębie grupy BNR, - enzymów pektynolitycznych produkowanych przez *Rhizoctonia* spp., - oceny zapotrzebowania izolatów BNR na tiaminę, - określania roli ekologicznej *Rhizoctonia* spp. (na podstawie testowania interakcji z roślinami modelowymi), - wpływu metabolitów wydzielanych przez *Rhizoctonia* spp. na siewki buraka cukrowego.

Materiał faktograficzny zaprezentowany przez Autorkę w poszczególnych podrozdziałach nie jest równo cenny. Obszernym podrozdziałem jest np. ten, który został poświęcony określeniu roli ekologicznej *Rhizoctonia* spp. na podstawie testowania interakcji z roślinami modelowymi. Inne podrozdziały są znacznie uboższe. Jednak w odniesieniu do

zasadniczych zagadnień materiał empiryczny jest wystarczający i pozwala na wyciągnięcie przedstawionych w pracy wniosków końcowych. Na podkreślenie zasługują pracowitość i zaangażowanie w przedsięwziętych procedur badawczych(!).

Uwaga 8: Podjęte próby uzyskania stadium teleomorficznego nie przyniosły niestety pozytywnych rezultatów, trzeba nadmienić jednak, że uzyskanie ich jest przedsięwzięciem bardzo trudnym.

Rozdział 6 – „Dyskusja” (ss. 119-132), liczy 14 stron. W tym rozdziale Autorka przedstawia podstawowe zagadnienia biologii grupy BNR, dyskusję prowadzi jednak w sposób nie do końca uporządkowany. Jako, że rozdział ten jest stosunkowo obszerny, można by go było podzielić na podrozdziały(?). Jednak mimo braku formalnego wyeksponowania poszczególnych wątków dyskusja jest *per saldo* czytelna i prowadzona w sposób konsekwentny.

Rozdział 7 – „Wnioski” (ss. 133-134), 2 strony. Zaprezentowane „wnioski” wypływają bezpośrednio z dyskusji i są trafnie „osadzone” w wynikach badań. (Najważniejsze wnioski sformułowane przez Autorkę w tym rozdziale zawarłem skrótowo także w końcowej partii tekstu niniejszej recenzji – pt.: „Rekapitulacja najważniejszych tez rozprawy (s. 5 recenzji)”).

Uwaga 9: „Wnioski” można byłoby również określić mianem rekapitulacji najważniejszych rezultatów badawczych.

Rozdział 8 – „Streszczenie” (ss. 135-137), 3 strony. Streszczenie nie zawsze wystarczająco eksponuje zasadnicze wnioski. Jest to moim zdaniem pewien mankament tego streszczenia. Jego pozytywem jest naświetlenie ogólniejszych aspektów biologii grupy BNR, z szczególnym uwzględnieniem tych, które są poruszanych w pracy.

Uwaga 10: s. 135 – „ (...) W identyfikacji gatunków *Rhizoctonia spp.* kluczowe są cechy morfologiczne telomorf (...)” – stwierdzenie wydaje mi się chybione, ponieważ *Rhizoctonia spp.* jest właśnie heterogeniczną grupą anamorficzną(!), a nie telomorficzną; skupia więc organizmy „niedoskonałe” należące niekiedy do bardzo odległych filogenetycznie taksonów. To samo stwierdzenie pojawia się również na s. 138.

Rozdział 9 – „Summary” (ss. 138-140), 3 strony. Uwagi merytoryczne jak do rozdziału „streszczenie”. Innych uwag brak.

Rozdział 10 – „Piśmiennictwo” (ss.141-153), liczy 13 stron – 149 pozycji. Spis pozycji jest w pełni adekwatny do rozwiązywanego problemu. Obecne są w nim zarówno dzieła klasycznych systematyków, jak i wyniki prac poświęconych nowoczesnej biologii

molekularnej; ich cytowanie w pracy jest w pełni uzasadnione. (Autorka dokładnie zapoznała się z bazami danych i dokonała trafnego wyboru.)

Uwaga 11: Autorka nieszczęśliwie zawierzyła funkcji automatycznego, alfabetycznego porządkowania publikacji – skutki nie są zadawalające (należy to segregować manualnie).

Rozdział 11 – „Aneksy” (ss.154-158), liczy 5 stron. Zawiera informacje nt. składu chemicznego podłoża, odczynników chemicznych, buforów i żeli. Brak uwag.

Drobne uwagi. Autorka nie ustrzegła się szeregu uchybień w tekście, które jednak nie zacierają jasności wyводу i tym samym nie rzutują na poziom merytoryczny pracy. Jednak w przypadku późniejszej publikacji tego tekstu usterki należałoby usunąć. Wymieniam niektóre z nich:

S. 13 – „Rodzaj *Rhizoctonia* klasyfikuje się w obrębie grzybów anamorficzych (...)” – powinno być: „Rodzaj *Rhizoctonia* skupia grzyby wykształcające formy anamorficzne (...)”;

S. 16 – „ (...) cienkie strzępki osiągające rozmiary do ok. 5-7 μm .” – powinno być: „(...) strzępki do 7 μm średnicy.”;

S. 46 – „ (...) a profil enzymów pektynolitycznych pozwala na ich różnicowanie w obrębie grupy.” – powinno być: „(...) w obrębie grupy stwierdza się obecność różnych profili enzymów pektynolitycznych”;

S. 119 – „ (...) uzyskano fragmentaryczny obraz populacji BNR obecnej w glebach Polski.” – powinno być: „(...) scharakteryzowano (częściowo) populację organizmów należących do grupy zwanej BNR występujących w glebach Polski.”.

Rekapitulacja najważniejszych tez rozprawy. Pani mgr Dagna Maculewicz opisuje w swoim wieloaspektowym (158. stronicowym) opracowaniu biologię grupy dwujądrowych przedstawicieli rodzaju *Rhizoctonia* (BNR) uzyskanych z krajowych populacji. Grupa ta ze względu na pospolicieść i patogeniczność (wirulentność) jest ważna gospodarczo. [Na marginesie warto przypomnieć, że wybitnym badaczem gatunków rodzaju *Rhizoctonia* był Julius Kühn, agrobiolog związany z pruszkowską Akademią, tam też uzyskał on habilitację. Innym badaczem związanym z pod opolskim środowiskiem naukowym, zajmującym się tą grupą był światowej sławy profesor Paul Sorauer – prawdopodobnie był pochodzenia hebrajskiego.]

W pracy dokonano szeregu istotnych spostrzeżeń dotyczących tej grupy organizmów; w mojej opinii posiadają one charakter *novum* naukowego. Najważniejszymi z nich są:

- odkrycie w mykobiocie kraju (jak to określa Autorka *mikoflorę*) obecności grupy anastomozującej AG-A (nienotowanej jeszcze w kraju);
- stwierdzenie w grupie AG-E obecności trzech jąder (może to być użyteczna cechą diagnostyczna);
- stwierdzenie, że grupy blisko ze sobą spokrewnione pod względem regionu ITS1-5,8S-ITS2 r DNA, posiadające jednocześnie podobne profile enzymów pektynolitycznych nie anastomozują (!), jest to z punktu widzenia biologii tej grupy ciekawe i moim zdaniem ważne zjawisko;
- potwierdzenie wysokiej patogeniczności dwujądrowych *Rhizoctonia spp.* (BNR) w populacji siewek buraka; brak wirulencji jest czymś wyjątkowym w tej grupie.

Reasumując, przedstawioną pracę oceniam wysoko; porusza ona bowiem szereg interesujących zagadnień biologii dość wąskiej lecz wysoce heterogenicznej i jednocześnie ważnej z gospodarczego punktu widzenia grupy grzybów. Autorka rozwiązała problem badawczy charakteryzując tę grupę na podstawie wyników testowania krajowych jej przedstawicieli. W pracy dokonano szeregu nowatorskich rozstrzygnięć. Dlatego wg mojej oceny przedstawiona praca spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r, o stopniach naukowych i tytule naukowym (...) (Dz. Ustaw Nr 65 poz. 595, z późniejszymi zmianami). Wnoszę zatem do Rady Wydziału Przyrodniczo-Technicznego o dopuszczenie Pani Mgr Dagny Maculewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie sugeruje opublikowanie tej pracy w formie monografii, która niewątpliwie wzbogaci krajową wiedzę w zakresie mikologii.

23/11/2016 *Stasow Sokol*