

Prof. dr hab. Maria Dynowska  
Katedra Mikrobiologii i Mykologii  
UWM w Olsztynie

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej pt. „**Taksonomia środkowoeuropejskich opieniek (*Armillaria* spp.) z elementami ekologii i ontogenezy**”

pani mgr **KATARZYNY GÓRKI**

Badania taksonomiczne nigdy nie straciły na swej aktualności szczególnie, że metody badań stają się bardziej dokładne, zwłaszcza te klasyczne, stanowiące punkt wyjścia do analiz molekularnych. Opisy gatunków i taksonów wyższej rangi są stale uzupełniane o nowe cechy analizowane w warunkach naturalnych i laboratoryjnych z wykorzystaniem programów komputerowych i metod statystycznych. Temat recenzowanej pracy wpisuje się w nurt badań porządkujących i rewidujących stanowisko systematyczne oraz nomenklaturę dotyczącą rodzaju *Armillaria*- grzybów o skomplikowanym cyklu rozwojowym, dużej zmienności i ciekawej ekofizjologii. Wybór tematu uważam za uzasadniony.

Pracę rozpoczyna, dobrze i rzeczowo zredagowany „**Wstęp**”- **Rozdział 1**. Na początku, Doktorantka zamieściła w nim: ogólną charakterystykę owocników *Armillaria* z elementami biologii gatunków należących do tego rodzaju, dane dotyczące szacowanej liczebności gatunków z rodzaju *Armillaria* na świecie i w Europie oraz informacje o gatunkach pospolitych, rzadkich, ekologicznie odmiennych i objętych ochroną ścisłą. Następnie, autorka przedstawiła aktualne stanowisko systematyczne rodzaju *Armillaria* oraz krótki życiorys taksonomiczny i nomenklatoryczny związany z problemami diagnostycznymi. Przedstawiła również dane z polskiej literatury dotyczące tego aspektu. W tym momencie należy zwrócić uwagę na Tabelę 1. zawierającą informacje, poparte źródłową literaturą, związane z nomenklaturą gatunków z rodzaju *Armillaria* i *Desarmillaria*. To cenne zestawienie. Omawiając dalej trudności diagnostyczne dotyczące *Armillaria* spp. Doktorantka podkreśla, że do porównywania gatunków opieniek nie wykorzystywano dotychczas taksonomii numerycznej ani programów komputerowych. Uwaga ta jest ważna w kontekście uzasadnienia wyboru metod badań. Podobnie, ważne są wskazówki dotyczące hodowli *in*

*vitro* oraz cech mikroskopowych zarodników analizowanych przy użyciu mikroskopów skaningowego i transmisyjnego. Autorka wskazuje trudności w przygotowaniu zarodników do analiz ze względu na ich uwodnienie, brak elementów wzmacniających wewnątrz struktur komórek oraz deformacje. Charakterystykę badanego rodzaju uzupełniają informacje mówiące o dużych stratach w gospodarce leśnej, wywołanych atakiem opieniek oraz wykorzystaniem tych grzybów do celów spożywczych i farmaceutycznych. Pod koniec „Wstępu” Doktorantka wymienia grzyby podobne do *Armillaria* spp., m.in. gatunki trujące: *Hypholoma fasciculare*, *Galerina marginata* czy *Inocybe virosa*, uwypuklając cechy odróżniające.

Na str. 9. ryzomorfy nazwano „narządami infekcyjnymi”- u grzybów nie ma narządów (typowe dla zwierząt) ani organów (typowe dla roślin), które zbudowane są z tkanek, a grzyby nie mają tkanek- to plechowce.

W **Rozdziale 2. „Cel pracy”** wyodrębniono „cel zasadniczy” ( moim zdaniem zbyt ogólny i niezgodny z prawdą, bo taksonomia *Armillaria* jest opracowana tylko wymaga zrewidowania i uzupełnień o wyniki analiz molekularnych) oraz „cele pośrednie” będące zadaniami badawczymi, które realizowano aby cel osiągnąć. **Każda praca powinna mieć jeden, jasno sformułowany cel.** O ile dobrze rozumiem, celem była analiza morfologiczna i ekofizjologiczna *Armillaria gallica* i *Armillaria ostoyae* w warunkach naturalnych i laboratoryjnych oraz przeprowadzenie rewizji taksonomicznej materiałów zielnikowych obejmujących europejskie gatunki *Armillaria*. W tym kontekście, ostatecznie, hipotezy mogłyby być przyjęte. Zupełnie niepotrzebnie w 1-szym akapicie rozdziału powtórzono, wcześniej zamieszczone, informacje dotyczące taksonomii i nazewnictwa.

Początek **Rozdziału 3. „Materiały”** stanowi opis terenu badań, ze wszystkimi niezbędnymi danymi fizjograficzno-mykosocjologicznymi, udokumentowany bardzo starannymi zdjęciami. Badania były prowadzone przez 3 lata, na terenie woj. opolskiego i śląskiego , na 11 monitorowanych stanowiskach, z których uzyskano 1080 owocników: 450 *A. gallica* i 630 *A. ostoyae*. Po analizie metrycznej zbiory zdeponowano w Herbarium Uniwersytetu Opolskiego. Do analiz mikroskopowych (1800 zarodników) z każdego stanowiska brano od kilku do kilkunastu owocników. Zarodniki, w formie świeżych i zasuszonych wysypów, fragmenty skórki kapelusza z łuseczkami i fragmenty blaszek były materiałem do mikroskopii skaningowej. Do analiz laboratoryjnych wzięto 4 izolaty *Armillaria* (3. *A. gallica*, 1. *A. ostoyae*) wyprowadzone z zebranych owocników w Katedrze

Warzywnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu na standardowej pożywce PDA firmy Difco oraz 80 ekсыkatów zielnikowych (12 ekсыkatów 8. gatunków z Niemiec, Finlandii, Austrii z Botanische Staatssammlung München, 15 ekсыkatów 6. gatunków z Polski, Niemiec i Słowacji z Herbarium Muzeum Przyrodniczego Uniwersytetu Wrocławskiego, 22 ekсыkaty 7. gatunków z Polski z prywatnej kolekcji doktora Hałamy z Uniwersytetu Wrocławskiego, 26 ekсыkatów 2. gatunków z Polski, Austrii, Słowacji, Czech, Niemiec i Włoch z Herbarium Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego i kolekcji prof. B. Gumińskiej oraz 5 ekсыkatów 2. gatunków z kolekcji Moravské Zemské Muzeum w Brnie). Obserwacje wzrostu grzybni prowadzono na trzech pożywkach: standardowej oraz niestandardowej pożywce glukozowo-ziemniaczanej i pożywce pszennej, a także na czterech podłożach z trocin: modrzewiowych, sosnowych, olchowych i klonowych.

Zastanawiam się co było powodem aby teren badań włączyć do „Materiałów”? Z reguły jest to odrębny rozdział, stanowiący tło badań w warunkach naturalnych. Uważam, że jest to błąd nie tylko formalny, ale także merytoryczny. Błędem formalnym jest również włączenie do rozdziału „Materiały” opisu pożywek i podłoży oraz opisu sposobu wyprowadzania izolatów czy przygotowywania podłoży do hodowli, bo to już są metody. **Natomiast materiał badawczy to wyłącznie grzyby i wszystkie ich struktury, generatywne oraz wegetatywne, a więc okazy własne + okazy zielnikowe.**

**Rozdział 4. „Metody”** to trudny dla czytelnika fragment pracy. Można w nim pogubić się. Już na samym początku (str. 43) powtórzono informacje ze str. 24 (pierwszy akapit Rozdziału 3.), a pierwszy akapit ze str. 44 dotyczy omówionego już wcześniej terenu badań.

Doktorantka, opisując obserwacje terenowe wskazuje kryteria zastosowane w ocenie morfologicznej zebranych owocników oraz przy charakterystyce ekologicznej stanowisk. Podaje sposób badania owocników pod kątem niezbędnych cech diagnostycznych skupiając się dalej na: etapach rozwoju owocników, obserwacjach różnych form grzybni białej (pod korą żywych i martwych drzew, w glebie i na/w rozkładającym się substracie) oraz charakterystyce ryzomorf podkorowych i śródglebowych. Opisuje miejsca pobierania materiału.

W dalszej części rozdziału omawia badania prowadzone przy użyciu mikroskopu stereoskopowego, świetlnego z zastosowaniem immersji (cechy metryczne zarodników określono przy użyciu programu ImageJ1.51t, mikrostruktury sfotografowano) oraz

mikroskopu skaningowego, dokładnie opisując technikę przygotowania materiału do analiz mikroskopowych.

**Podrozdział 4.3.** zatytułowano „**Badania hodowlane**”. To wielce niepoprawne sformułowanie oznacza, że badania możemy hodować. Sądzę, że Doktorantce chodziło o „badania hodowli” lub jeszcze ściślej- o „badania izolatów *A. gallica* i *A. ostoyae*”. W tym miejscu Doktorantka po raz trzeci wraca do wyprowadzania izolatów. Moim zdaniem, informacje ze str. 34, 35 i 48 należałoby zebrać. Niestety, opis metod jest chaotyczny- należałoby go przeanalizować w logicznej kolejności. Zupełnie niepotrzebnie informacje dotyczące tej samej kwestii zostały rozrzucone w kilku podrozdziałach (uwaga ta dotyczy również Rozdziału 3.). A przecież znacznie prościej i bardziej czytelnie byłoby tę część pracy zreorganizować w sposób klasyczny: Rozdział „Teren badań”, Rozdział „Materiał i Metody” podzielić na „Materiał”(już zaznaczyłam wcześniej co jest materiałem badawczym) i „Metody”, a w nich wyróżnić: a) badania terenowe, b) badania laboratoryjne i c) analizy komputerowe i statystyczne.

Zdaję sobie sprawę z tego, że Doktorantka chciała jak najdokładniej opisać każdy etap swojej pracy w kolejności wykonywanych czynności, ale nie tylko o to chodzi w opisie badań naukowych. Na tym etapie oczekuje się od badacza syntetycznego ujęcia myśli zawartych w tekście i wszystko co daje się połączyć koniecznie należy łączyć- inaczej, tekst jest mało przejrzysty, a jeżeli dodać niefortunne i nieco zagmatwane sformułowania to tekst staje się niezrozumiały. Podaję przykład, str. 43 cyt, „Wartości średnic są wyrażone jako wartość średnia z dwóch pomiarów średnic mierzonych względem dwóch linii ułożonych pod kątem prostym, którego środek przebiega przez środek kapelusza lub trzonu”.

Kontynuacją opisu metod są badania związane z obserwacjami wzrostu i rozwoju grzybni *A. gallica* i *A. ostoyae* na wybranych pożywkach agarowych oraz podłożach trocinowych. Rozdział 4. Kończą informacje obejmujące makro- i mikroskopowe analizy zbiorów zielnikowych, statystykę przeprowadzoną z wykorzystaniem programu Statistica 13.1 oraz komputerowe analizy 28. cech diagnostycznych przedstawicieli rodzajów *Armillaria* i *Desarmillaria*, dla których wyznaczono 23 zakresy zmienności. Te ostatnie analizy przeprowadzono przy wykorzystaniu programu Taksonomia Numeryczna 2006, o którym niewiele dowiadujemy się z pracy.

**Rozdział 5. „Wyniki”** rozpoczyna się charakterystyką makromorfologiczną owocników *A. gallica* i *A. ostoyae* uwzględniającą wszystkie cechy diagnostyczne niezbędne

przy oznaczaniu macromycetes, cechy siedliska oraz fenologię. Charakterystykę dopełnia dokładny opis cyklu rozwojowego owocników (od primordiów- etap inicjalny do obumarcia- etap terminalny) oraz różnych form grzybni, których powstawanie i rozwój skorelowano z uwarunkowaniami środowiskowymi. Dalej, Doktorantka przedstawia podstawowe cechy mikromorfologiczne zaobserwowane w mikroskopie świetlnym (zarodniki, cheilocystydy, sprzążki, łuseczki) oraz w mikroskopie skaningowym (zarodniki, blaszki, łuseczki). Szczególnie ważne są spostrzeżenia dotyczące stanu zachowania zarodników przy zastosowaniu różnych metod ich utrwalania. Wszystkie opisy cech makro- i mikroskopowych udokumentowano bardzo dobrej jakości zdjęciami.

Przy opisie gatunków wskazane byłoby połączenie cech makro- i mikroskopowych- dla czytelnika ważna jest pełna charakterystyka gatunku, którą przy takim ujęciu wyników uzyska dopiero wtedy, gdy sam ją opracuje po przeczytaniu całości. Wydaje mi się, że powinna to zrobić Autorka.

Dalsze wyniki obejmują dane dotyczące porównania wzrostu grzybni badanych gatunków i wyprowadzonych z nich izolatów na zastosowanych pożywkach i podłożach. Chociaż testy statystyczne nie wykazały istotnych różnic we wzroście i tempie wzrostu na pożywce pszennej i glukozowo-ziemniaczanej u *A. gallica* i *A. ostoyae* to lepszą pożywką okazała się ta druga, szczególnie dla *A. ostoyae*. W odniesieniu do izolatów badanych gatunków różnice statystyczne stwierdzono po 28 dniach hodowli na pożywce pszennej oraz po 7, 21 i 28 dniach na pożywce PDA. Po 28. dniach opisano również kolonie dwu gatunków zwracając szczególną uwagę na sposób tworzenia, budowę i rodzaj ryzomorf- to cechy ważne przy odróżnieniu *A. gallica* i *A. ostoyae*. Wyniki zobrazowano fotografiami kolonii od spodu i od strony powierzchni.

Identyczny schemat opisu przyjęto przy ocenie wzrostu grzybów na podłożach trocinowych. Z porównania wynika, że rodzaj podłoża ma większe znaczenie dla *A. ostoyae* niż *A. gallica*. Pierwszy gatunek wyraźnie preferował podłoże z trocin modrzewiowych. Doktorantka wykazała, że rodzaj podłoża miał istotne znaczenie przy wykształcaniu ryzomorf: *A. ostoyae* nie wykształciła ryzomorf na żadnym podłożu. W przypadku *A. gallica* zaznaczyły się różnice między izolatami. Żaden izolat nie wykształcił ryzomorf na podłożu olchowym, a jeden wykształcił je tylko na podłożu sosnowym. To ważne spostrzeżenia pozwalające odrzucić podłoże z trocin olchowych jako nieprzydatne.

Podczas rewizji zielnikowych zestawiono wprowadzić cechy poddane analizie podobieństwa fenetycznego i sporządzono dendrogram dla 8. gatunków *Armillaria* i 2. gatunków *Desarmillaria*, jednak nie interpretowano go.

**Rozdział 6. „Dyskusja”** podzielono na podrozdziały adekwatne do układu wyników. W rozdziale tym dominują treści o charakterze opisowym, prawdziwej dyskusji jest mało- wynika to ze sposobu cytowania piśmiennictwa. Bardzo trudno jest zorientować się, które myśli należą do Doktorantki i wynikają z Jej własnych spostrzeżeń, a które należą do cytowanych autorów. Rozdział ten bardziej przypomina przegląd piśmiennictwa niż dyskusję wyników. W tej części pracy nie powinno się powtarzać wyników (chyba, że porównuje się je z piśmiennictwem) i odwoływać do dokumentacji. Dopiero treść podrozdziałów od 6.4. do 6.6. ma charakter dyskusji. Natomiast podrozdział 6.7. „Opisy i klucze do oznaczania gatunków z rodzaju *Armillaria* i *Desarmillaria*” powinien być odrębnym rozdziałem. Reasumując, rozdział 6. wymaga poważnej rewizji formalnej, która nie umniejszy jego wartości merytorycznej lecz uwypukli ją. Należy również zwrócić uwagę na niektóre sformułowania powodujące błędy logiczne. Na przykład, str. 113 cyt. „Oznaczanie *A. gallica* było natomiast trudniejsze, choć trudno było o pomyłkę z *A. ostoyae*”- jeżeli trudno było o pomyłkę to znaczy, że nie było trudniejsze lub str. 116 cyt. „Przeprowadzone do tej pory badania hodowlane, w których owocnikowano kultury w warunkach laboratoryjnych (lit...), podczas których obserwowano proces tworzenia się grzybni wachlarzowatej (lit...)- co to jest „owocnikowanie kultury”? I o co chodzi w tym fragmencie?

W **rozdziale 7.** znalazły się **„Wnioski”**, które według mnie są raczej podsumowaniem, w którym zabrakło jakiegokolwiek wzmianki o rewizjach zielnikowych, **a to konieczne ze względu na tytuł i cel pracy.**

Manuskrypt kończy spis 212. pozycji piśmiennictwa- głównie anglojęzycznego, dobranego bez zastrzeżeń, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis rycin, tabel i tablic oraz 2 aneksy. Aneks 1. zawierający dane wykorzystane w taksonomii numerycznej i Aneks 2. zawierający dane statystyczne.

Niezależnie od uwag jakie starałam się zamieszczać analizując tekst na bieżąco, pracę oceniam pozytywnie. Wymagała ona od Doktorantki dobrego przygotowania merytorycznego oraz wytrwałości i dokładności przy realizacji zaplanowanych zadań badawczych. Zabrakło tylko trochę więcej doświadczenia w formułowaniu założeń badań i redagowaniu tekstu, który w takiej formie nie nadaje się do druku, ale to przecież początek drogi naukowej.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki, porządkują w niewielkim stopniu dane diagnostyczne dotyczące rodzaju *Armillaria*, chociaż zawierają szereg nowych informacji, wzbogacających szeroko rozumianą wiedzę mykologiczną, bardzo przydatną dla teoretyków oraz praktyków podejmujących badania taksonomiczne.

**W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Przyrodniczo-Technicznego Uniwersytetu Opolskiego w Opolu o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Górki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Olsztyn, 2 stycznia 2019 roku

