



**UNIwersytet Rolniczy**  
im. Hugona Kollątaja w Krakowie  
**Katedra Mikrobiologii**  
30-059 Kraków, Al. Mickiewicza 24/28  
Tel.: +48 12 6624096 tel./fax: +48 12 6331356

Kraków, dnia 08 stycznia 2018 r.

## **Recenzja**

### **rozprawy doktorskiej**

**Autor: mgr inż. Gerard Chwat**

**Tytuł pracy: „Wstępne badania nad możliwością wykorzystania arbuskularnych grzybów mikoryzowych (AGM) w ochronie roślin chronionych oraz utrzymaniu i rekonstrukcji wydm zagrożonych zdewastowaniem”**

Praca wykonana w Katedrze Ekologii, Ochrony i Kształtowania Środowiska na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Janusza Błaszковского.

Recenzja przygotowana w odpowiedzi na pismo Pana Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie Pana dr hab. inż. Edwarda Mellerera z dnia 21 listopada 2017 roku, którym poinformowano mnie, że decyzją Rady Wydziału zostałam powołana na recenzentkę w/w pracy.

#### **Problematyka badawcza**

Przedstawiona do recenzji praca mgr inż. Gerarda Chwata dotyczy niezwykle ciekawego i jednocześnie istotnego, z punktu widzenia ochrony wydm polskiego wybrzeża Bałtyku, zagadnienia. Autor, w swoim opracowaniu, podjął się trudnego zadania dotyczącego nie tylko analizy występowania różnych gatunków arbuskularnych grzybów mykoryzowych związanych z roślinnością wydmową, ale także - na podstawie wyników badań - dokonał

oceny możliwości wykorzystania wybranych izolatów w ochronie roślin typowych dla wydm piaskowych, a tym samym ochronie samych wydm.

Grzyby należą do najbardziej zróżnicowanego Królestwa organizmów na Ziemi. Obecnie oznaczonych jest ponad 100.000 gatunków, jednak według różnych danych literaturowych może być ich nawet 5 milionów. Nowe narzędzia (analizy molekularne) stosowane w diagnostyce mykologicznej co roku pozwalają uzupełniać listę znanych gatunków, niestety ogromne zróżnicowanie tej grupy sprawia wiele trudności z usystematyzowaniem istniejącej wiedzy. Arbuskularne grzyby mykoryzowe zostały stosunkowo niedawno umieszczone w gromadzie Glomeromycota na co pozwoliły badania molekularne – jednak systematyka grzybów nadal podlega licznym zmianom a propozycje naukowców niekiedy bywają sprzeczne.

Współzycie dwu różnych grup - roślin naczyniowych i grzybów, jest efektem milionów lat ewolucji, początki mykoryzy najprawdopodobniej sięgają czasów gdy rośliny zaczęły podbój lądów. Udowodniono, że już w dewonie grzyby mykoryzowe towarzyszyły roślinom naczyniowym i pomogły im skutecznie skolonizować środowisko lądowe.

Według różnych szacunków blisko 90% roślin tworzy związki z grzybami, w tym rośliny rosnące na glebach kwaśnych, zanieczyszczonych metalami ciężkimi oraz wydmach morskich, które były obiektem badań autora przedstawionej do recenzji pracy.

W przyrodzie występuje ogromna różnorodność form morfologicznych i anatomicznych tworzących się dynamicznie mykoryz. O tym, z którym z grzybów nawiąże się mykoryza, decyduje wiele czynników takich jak gatunek rośliny, jej faza rozwojowa a także siedlisko i warunki klimatyczne.

Obecnie poznano i opisano niespełna 300 gatunków AGM (arbuskularnych grzybów mykoryzowych), co stanowi niewielki odsetek znanych grzybów, więc nadal pozostaje wiele do odkrycia a przecież nie sposób przecenić roli tych organizmów właściwie w każdym ekosystemie. Tworzą one związki mykoryzowe z wieloma gatunkami roślin, a przerastająca glebę strzępka pobiera sole mineralne z o wiele większej przestrzeni niż mogą to uczynić same korzenie, oprócz funkcji „żywniowych” pełnią także funkcję „sanitarną” ochraniając rośliny przed patogenami - szczególnie tymi, które atakują system korzeniowy i zmniejszając ich wrażliwość na stresy abiotyczne i biotyczne. Właśnie te funkcje grzybów mykoryzowych sprawiają, że są one roślinom niezbędne, co zostało dostrzeżone już dawno i wykorzystane głównie w szkółkarstwie leśnym, gdzie od wielu lat prowadzona jest inokulacja korzeni drzew grzybami mykoryzowymi. Polska od dawna posiada technologie pozwalające na

produkcję biopreparatów zawierających aktywne szczepy grzybów mykoryzowych i sterowanej mykoryzacji sadzonek, warto zatem te osiągnięcia wykorzystać także w przypadku roślin chronionych - na co zwrócił uwagę Doktorant.

Mając na uwadze powyższe dane mogę z całą odpowiedzialnością stwierdzić, że podjęta w rozprawie tematyka jest aktualna i oryginalna, badania autora wpisują się w światowe trendy, a doświadczenia skupiają się na istotnych zagadnieniach dotyczących szeroko pojętej ochrony roślin i środowiska, warto również zwrócić uwagę, że część wyników została opublikowana w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, co dodatkowo świadczy o wysokiej wartości pracy.

Przeprowadzone przez Doktoranta kilkuletnie badania dostarczyły wielu ciekawych wyników i z pewnością stanowiły dla autora niemałe wyzwanie szczególnie, że wykorzystywał w analizach nie tylko metody tradycyjne, ale także techniki molekularne co dobrze świadczy o jego warsztacie badawczym i przygotowaniu do pracy laboratoryjnej. Doceniam także ogromny wysiłek Doktoranta włożony w zestawienie, opracowanie i statystyczną analizę wyników.

Mając na uwadze różnorodność i szeroki zakres wykonanych badań oraz dogłębną analizę wyników pozytywnie oceniam opracowanie, które mieści się w dyscyplinie ochrona i kształtowanie środowiska.

### **Ocena pracy pod względem formalnym i strukturalnym**

Przedstawiona do recenzji praca została przygotowana w formie opracowania w sposób typowy dla doktorskich prac eksperymentalnych i obejmuje 91 stron maszynopisu (w tym 82 strony zasadniczego tekstu i 9 stron spisu literatury) podzielonego na pięć rozdziałów z podrozdziałami systematyzującymi informacje literaturowe, dane na temat zastosowanych materiałów i metod badawczych, opis wyników z badań własnych autora, dyskusję i wnioski. Praca zawiera również streszczenia w języku polskim i angielskim oraz bibliografię.

Pod względem układu praca w zasadzie została przygotowana poprawnie, jest logiczna, a treści zostały przedstawione we właściwej kolejności – niemniej jednak uważam, że cel pracy jest na tyle istotnym elementem rozprawy, że zasługuje na to aby go wyraźnie wyodrębnić jako rozdział, a nie tylko zamieścić jako część wstępu. Ponadto w treści pracy rozdział Wstęp został podzielony na podrozdziały, co niestety nie znalazło odzwierciedlenia w spisie treści, podobnie zresztą jak w przypadku rozdziału Dyskusja.

Pod względem formalnym opracowanie nie wzbudza zastrzeżeń, jest napisane w sposób poprawny językowo – nieliczne błędy stylistyczne i edytorskie nie obniżają wartości



opracowania. Praca przygotowana jest ciekawie i spójnie, a zgromadzone pozycje literatury zostały zacytowane poprawnie.

Wykorzystana w przygotowaniu opracowania starannie dobrana bibliografia obejmuje 141 pozycji. Zgromadzona literatura to głównie najnowsze publikacje w języku angielskim oraz pozycje starsze, które niezbędne były dla prawidłowego przedstawienia analizowanego zagadnienia, zarówno od strony teoretycznej jak i praktycznej.

W tabelach zostały zestawione dane meteorologiczne dotyczące okresu badawczego (tabela 1) oraz niektóre wyniki badań (tabele od 2 do 8). W pracy znajdują się także liczne ryciny (łącznie 19) - w tym dokumentacja fotograficzna, dendrogramy, diagramy i klasyczne wykresy (niestety nie do wszystkich znalazłam odniesienia w tekście), które umożliwiły autorowi poprawną interpretację wyników. Sposób zestawienia rezultatów badań i wykonana analiza statystyczna świadczą o tym, że Doktorant potrafi dojrzałe i trafnie weryfikować informacje naukowe. Przedstawienie części wyników w postaci wykresów, diagramów i dendrogramów było dobrym wyborem autora, gdyż pozwala to czytelnikowi na szybszą i łatwiejszą analizę wyników, co czasami bywa utrudnione w przypadku zestawień tabelarycznych.

### **Ocena pracy pod względem metodycznym**

W ramach części eksperymentalnej przedstawionej do recenzji pracy Doktorant wykonał szereg analiz próbek pobranych z wydm, zmierzających do oceny częstotliwości występowania i obfitości zarodnikowania arbuskularnych grzybów mykoryzowych - symbiontów głównie Piaskownicy zwyczajnej (*Ammophila arenaria*), ale także innych roślin - na badanym odcinku wydm w trzech kolejnych latach. Ilość pobranych próbek i wykonanych badań podstawowych (250 próbek gleby ryzosferowej i 250 kultur pułpkowych założonych z tych gleb) pozwala sądzić, że uzyskane wyniki są wiarygodne i reprezentatywne dla badanego środowiska.

Autor nie tylko wyizolował zarodniki AGM i zidentyfikował je w oparciu o cechy morfologiczne, ale co istotniejsze, przeprowadził analizy molekularne (PCR), a po uzyskaniu sekwencji izolatów grzybów porównywał je ze znanymi sekwencjami znajdującymi się w GenBanku co pozwoliło nie tylko na oznaczenie ich przynależności systematycznej i stworzenie drzewa filogenetycznego, ale także ujawnienie w nim pozycji rodzajów/gatunków wcześniej niezidentyfikowanych (np. rodzaje *Dominikia*, *Kamienskia*, *Corymbiglomus*).

Metodyka została poprawnie opisana i uzupełniona odsyłaczami do stosownych tekstów źródłowych. Doświadczenia były zaplanowane logicznie a szeroko zakrojone badania laboratoryjne wymagały od Doktoranta dużego nakładu pracy, konsekwencji w działaniu, systematyczności i dokładności, bowiem tego typu analizy są bardzo czasochłonne i wymagają ogromnego zaangażowania badacza.

W moim mniemaniu Doktorant umiejętnie wykorzystał informacje zawarte na stronach GenoBanku, MycoBanku i innych baz danych dotyczących diagnostyki mykologicznej co często stanowi wyzwanie nie tylko dla młodych badaczy.

Zgromadzone wyniki wykonanych badań zostały opracowane statystycznie z wykorzystaniem poprawnych metod i przedstawione w postaci tabel i rycin. Szczególnie doceniam ogrom pracy wykonany przy analizie statystycznej, która wymagała od autora nie tylko wiedzy na temat odpowiednich narzędzi statystycznych, ale także znajomości stosownego oprogramowania.

### **Ocena merytoryczna pracy**

Autor pracy postawił sobie ambitne cele dokonania nie tylko oceny częstotliwości występowania i różnorodności morfologicznej i molekularnej arbuskularnych grzybów mykoryzowych związanych z roślinnością nadmorskich wydm piaszczystych (głównie *Ammophila arenaria*) Słowińskiego Parku Narodowego, ale także – zbadania sukcesji AGM związanych z roślinami różnych stadiów sukcesji roślinności 12. zagłębienia deflacyjnego SPN, opisanie i oznaczenia przynależności systematycznej oraz określenia pozycji filogenetycznej grzybów pochodzących zarówno z SPN jak i kolekcji Katedry Ekologii, Ochrony i Kształtowania Środowiska - w tym rodzajów/gatunków, których wcześniej nie znano, a także zidentyfikowanie gatunków AGM, które powinny być wykorzystywane w ochronie roślin i stanowisk wydmych.

Teoretyczne podstawy związane z celami badawczymi autor przedstawił w kilkunastu wstępie, w którym omówił zagadnienia dotyczące występowania, pochodzenia, roli i systematyki AGM. W tym rozdziale czytelnik znajdzie również przekrojowe informacje na temat arbuskularnych grzybów mykoryzowych gleb wydmych i Słowińskiego Parku Narodowego.

Zamierzony cel badań Doktorant osiągnął przeprowadzając liczne analizy materiałów pobranych w trzech kolejnych latach (2011-2013). W ramach badań przeprowadzonych w przemyślany sposób Doktorant nie tylko określił liczebność, przynależność systematyczną i

częstotliwość występowania arbuskularnych grzybów mykoryzowych związanych z roślinnością wydmową, ale określił także pozycję filogenetyczną nowych gatunków i zaproponowanych rodzajów *Dominikia*, *Kamienskia*, *Corymbiglomus*, zasugerował również, które z oznaczonych AGM mogą zostać wykorzystane do mykoryzacji roślin chronionych stanowisk wydmowych. Szczególnie istotna w rozdziale Wyniki wydaje się dokładna charakterystyka nowych rodzajów i gatunków AGM wyizolowanych, oznaczonych i opisanych w trakcie prowadzenia badań.

Rezultaty analiz zostały poddane dyskusji w rozdziale czwartym, w którym autor omówił uzyskane wyniki na tle literatury. W ramach tego rozdziału dokonana została szczegółowa analiza tekstów źródłowych związanych z tematyką realizowanych badań –wyjątkowo cenny wydaje się tutaj podrozdział dotyczący wykorzystania arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ochronie roślin oraz utrzymaniu i rekonstrukcji zagrożonych zdezastowaniem wydm.

Autor dostrzegł, że ekotypy AGM występujące w Słowińskim Parku Narodowym najlepiej nadają się do mykoryzacji roślin wydmowych tego obszaru gdyż są już do niego zaadaptowane - co również znalazło poparcie w cytowanych tekstach źródłowych. Rozdział Dyskusja stanowi bogate podsumowanie wiedzy merytorycznej dotyczącej podjętego w rozprawie problemu i świadczy o analitycznych zdolnościach Doktoranta oraz dużej wiedzy teoretycznej.

W końcowym rozdziale autor zamieścił jedenaście wniosków, które stanowią bezpośrednie odbicie otrzymanych wyników badań, są rzeczowe i odnoszą się do celu pracy.

Na zacytowanie zasługuje ostatni wniosek, w którym autor podsumowując swoje badania podaje, że do produkcji szczepionki przeznaczonej do użycia w w ochronie gatunków roślin chronionych i utrzymaniu oraz rekonstrukcji zdezastowanych wydm SPN należy wykorzystać głównie *Glomus tetrastratosum* i *Scutellospora dipurpurescens*.

Mając na uwadze informacje zawarte w poszczególnych rozdziałach i podrozdziałach praca może stanowić istotną pozycję w literaturze dotyczącej nie tylko mykoryzy arbuskularnej, ale także diagnostyki mykologicznej ze względu na zawarte w niej szczegółowe opisy nowych rodzajów i gatunków AGM.

Z obowiązku recenzenta przedstawiam swoje uwagi dotyczące pracy (głównie drobne błędy edycyjne), mając jednocześnie nadzieję, że posłużą lepszemu przygotowaniu kolejnych publikacji do druku:

- 1) Należy pamiętać, że obecnie, zgodnie z decyzją Rady Języka Polskiego, powinniśmy używać terminu mykoryza w miejsce powszechnie dotychczas stosowanego mikoryza. Rada Języka Polskiego przy Prezydium Polskiej Akademii Nauk w dnia 27 czerwca 2011 roku, na XXXV posiedzeniu plenarnym, na którym zostały przedstawione i omówione kwestie dotyczące ustalenia fonetyczno-graficznej formy nazwy nauki o grzybach, opowiedziała się za przyjęciem, jako jedynie poprawnej formy zapisywanej przez „y”, czyli: mykologia i słów pochodnych jak: mykologiczny, mykolog, mykoryza. Informację o decyzji można znaleźć na stronie Polskiego Towarzystwa Mykologicznego ([www.ptmyk.pl](http://www.ptmyk.pl))
- 2) Strona 3 – w spisie treści nie uwzględniono rozdziału Cel pracy i podrozdziałów w rozdziałach Wstęp oraz Dyskusja;
- 3) Strony 4 i 10 - jest: „...stanowiska wydmowych...” - powinno być: „...stanowisk wydmowych...”;
- 4) Strona 7 – podano złe daty/lata – zamiast 1981 i 1985 powinno być 1881 i 1885;
- 5) Strona 9 – niepoprawny skrót nazw parku – SNP; ponadto zdanie „Słowiński Park Narodowy utrzymuje 41 i 11 gatunków roślin chronionych odpowiednio całkowicie i częściowo chronionych oraz liczne jego powierzchnie są regularnie erodowane” – jest trochę nieskładne;
- 6) Strony 11 i 12 – tabela 1 – niepotrzebnie w dwóch miejscach zamieszczono numeracje próbek pobranych z 12. zagłębienia deflacyjnego spod *Ammophila arenaria*;
- 7) Strony 16 i 17 – należy używać jednostek układu SI – zamiast ml powinno być cm<sup>3</sup>;
- 8) Strona 23 (i inne) – chociaż forma „znajdywać” niepoprawną nie jest to jest rzadko używana (praktycznie już nie jest używana) i skłaniam się ku użyciu słowa „znajdować”;
- 9) Strona 39 – rycina 11 – Proponuję zmianę tytułu na „Obfitość zarodnikowania *Glomus tetrastratosum* w 12. zagłębieniu deflacyjnym w zależności od wilgotności gleby (%)”;
- 10) Strony 40 i 41 – zdanie „Gatunek prawdopodobniej szeroko rozpowszechniony na świecie, ale występuje rzadko” nie brzmi dobrze;
- 11) Strona 41 – zdanie „Wcześniej podawana z SPN, jak również z innych regionów Polski i świata” nie wydaje się poprawne;



- 12) Strona 49 – zdania „Gatunek szeroko rozpowszechniony na świecie, ale nie powszechny” oraz „W Polsce notowany wielokrotnie, ale nie często” chyba również należałoby przeredagować;
- 13) Strona 80 – jest „zaadoptowane do warunków” powinno być „zaadaptowane do warunków”.

Podsumowując recenzję stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa naukowa pt. „Wstępne badania nad możliwością wykorzystania arbuskularnych grzybów mikoryzowych (AGM) w ochronie roślin chronionych oraz utrzymaniu i rekonstrukcji wydm zagrożonych zdewastowaniem” przygotowana przez mgr inż. Gerarda Chwata stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wskazuje, że autor posiada niezbędną wiedzę teoretyczną, zdolny jest do planowania eksperymentów, opanował techniki laboratoryjne oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy badawczej w dyscyplinie ochrona i kształtowanie środowiska spełniając tym samym wymagania stawiane pracom doktorskim określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami).

W związku z powyższym wnioskuję do członków Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie mgr inż. Gerarda Chwata do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Jednocześnie, mając na uwadze nowatorstwo pracy – w tym oznaczenie nowych gatunków grzybów mykoryzowych i zaproponowanie gatunków AGM do mykoryzacji roślin chronionych, wnoszę o jej wyróżnienie.

Dr hab. inż. Maria J. Chmiel

