

Prof. dr hab. Anna Kryszak
Zakład Bioróżnorodności Ekosystemów
Katedra Łąkarstwa i Krajobrazu Przyrodniczego
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

OCENA

rozprawy doktorskiej Pana dr inż. Roberta Cysewskiego
pt.: Zróżnicowanie taksonomiczne grzybów entomopatogenicznych Parku
Narodowego „Bory Tucholskie” oraz jego otuliny,
wykonana na prośbę Dziekana Wydziału Biologii
Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
(pismo WB – 448-16/17 z dnia 31.05.2017 r.)

Przedstawiona do oceny rozprawa została wykonana pod kierunkiem
dr hab. Łukasza Stępnia w Instytucie Genetyki Roślin PAN w Poznaniu

1. Wybór tematu, teza badawcza, cel i zakres pracy

Ochrona bioróżnorodności jest problemem niezwykle złożonym, gdyż wiele składników środowiska naturalnego jest powiązanych ze sobą różnymi zależnościami, oddziaływaniami a których skutki często są odmiennie postrzegane przez przyrodników i praktyków użytkujących tereny rolnicze czy leśne. Zatem często rysują się dylematy związane z dokonaniem wyboru pomiędzy ochroną patogena, ochroną gospodarza, czy ochroną ekosystemu z którym są związani, a potrzebą ich zwalczania.

Jednymi z takich organizmów są grzyby. Obecnie opisanych jest około 120 tys. gatunków, ale liczba ta systematycznie ulega zwiększeniu. Szacuje się, że na świecie może ich być nawet ok. 1,5 mln. Wśród nich wiele gatunków pełni pozytywne funkcje w biocenozach (regulacyjną względem liczebności populacji, symbiotyczną), ale także patogenne względem roślin i zwierząt. Jedną z grup grzybów szkodliwych dla zwierząt są

grzyby bytujące i żywiące się stawonogami – grzyby entomopatogeniczne. Ich liczebność określa się na ok. 750 gatunków i to one przede wszystkim regulują populacje owadów w danym środowisku. Należy jednak zaznaczyć, iż wiele z nich występuje bardzo rzadko.

Ostatnio wzrasta zainteresowanie tą grupą organizmów, m.in. ze względu na możliwości wykorzystania większej liczby gatunków i ich biologicznie aktywnych substancji toksycznych względem stawonogów, w kontekście integracji działań w ochronie roślin przed szkodliwymi owadami. Jednocześnie intensywne użytkowanie m.in. na obszarach rolniczych, doprowadziło do silnego zubożenia bioróżnorodności, w tym entomopatogenów, a to uzasadnia potrzebę ochrony tej grupy patogenów.

Zatem uważam dobór tematyki rozprawy za trafny i uzasadniony, ze względu na:

- ciągłą potrzebę poszerzania wiedzy o zróżnicowaniu taksonomicznym tej grupy organizmów w kontekście ciągłego „odkrywania” nowych gatunków grzybów, w tym entomopatogenicznych
- objęcie badaniami siedlisk leśnych, które jak wykazują wyniki dotychczasowych publikowanych badań charakteryzują się największym bogactwem grzybów entomopatogenicznych, gdyż tam panują korzystne dla nich warunki wilgotnościowe i temperaturowe,
- objęcie badaniami przede wszystkim siedlisk borowych, w których dotychczas prowadzono niewielką liczbę badań z tego zakresu,
- teren badań, tj. podlegający ochronie, a tym samym sprzyjający zachowaniu różnorodności biologicznej i dający możliwość identyfikacji nowych gatunków, które w innych warunkach mogłyby być „stracone”. Należy zauważyć ich dotychczas najlepiej rozpoznany jest skład gatunkowy tych grzybów w lasach dwóch parków narodowych (WPN i BPN).

Należy nadmienić, iż przedstawione powyżej aspekty pracy doktorskiej Pana dr inż. R. Cysewskiego wpisują się w nurt badań nad entomopatogenami prowadzonymi od wielu lat w zespole pod kierownictwem przez prof. dr hab. Stanisława Bałazego.

Badania do pracy przedstawiają także aspekt praktyczny, poprzez rozpoznanie gatunków grzybów entomopatogenicznych i możliwość ich wykorzystywania jako biopestycydów w zwalczaniu szkodników bytujących przede wszystkim na terenach leśnych, głównie w borach.

W związku z powyższym podjęcie przez Autora recenzowanej pracy badań, których głównym celem było poznanie zróżnicowania taksonomicznego grzybów entomopatogenicznych oraz wskazanie iż niektóre z nich powodują masowe wymieranie

stawonogów należy uznać za uzasadnione. Brzmienie tytułu rozprawy trafnie precyzuje zawartość treściową całości opracowania.

2. Ocena struktury pracy oraz dokumentacji tabelarycznej i graficznej

Rozprawa doktorska Pana dr inż. R. Cysewskiego obejmuje 120 stron maszynopisu. Uzyskane wyniki są udokumentowane 5 tabelami (w tym 2 w tekście i 3 w „Suplemencie”), 12 rycinami (w tym 1 rycina w „Suplemencie”), 10 fotografiami oraz 6 mapami obszarów leśnych. Autor w całym opracowaniu cytuje 227 pozycji literatury, w większości anglojęzyczne.

Dysertacja doktorska Pana dr inż. R. Cysewskiego wykazuje strukturę właściwą dla prac naukowych. Rozprawę podzielono na 9 logicznie po sobie następujących rozdziałów, aczkolwiek uważam, iż rozdz. „*Wstęp*” zawiera w znacznej części elementy rozdziału, który w układzie klasycznym dla rozpraw stanowi rozdz. „*Przegląd literatury*” nakreślający szeroko problem dotyczący zakresu pracy.

Zestawienia tabelaryczne i materiały ilustracyjne prawidłowo korespondują z zawartością treściową dysertacji, chociaż w mojej ocenie w bardzo skromny sposób dokumentują wyniki badań.

Ogólnie jednak należy stwierdzić, iż zachowano logiczną kolejność rozdziałów i podrozdziałów. Rozprawa jest przejrzysto zredagowana, starannie opracowana, z dostrzegalną dbałością o jej stronę wizualną.

3. Podstawy metodologiczne badań

Podstawę pracy stanowią wyniki badań, prowadzonych przez 12 lat, tzn. od roku 2003, w zakresie: przede wszystkim rozpoznania zróżnicowania taksonomicznego grzybów entomopatogenicznych, ale także próby określenia zależności pomiędzy różnorodnością ekosystemów leśnych i wybranych nieleśnych, a bogactwem gatunkowym grzybów powodujących zamieranie stawonogów, a ponadto charakterystyki epizooocji na wybranych przykładach. Zakres prac badawczych przedstawiony w rozdz. „*Materiał i metody*” obejmował:

- w terenie wg metodyki autorskiej Bałazy-Cysewski (2003) pobranie materiału, tj. martwych stawonogów (w tym takich, które wskazywały na możliwość porażenia przez grzyby entomopatogeniczne) w ekosystemach leśnych i nieleśnych oraz w poszczególnych warstwach fitocenozy i w glebie,

- laboratorium – przy zastosowaniu odpowiednich metodyk badawczych (Lacey 2012, Lacey, Kaya 2007) przygotowano preparaty z zarodników grzybów entomopatogenicznych, następnie po otrzymaniu z nich czystych kultur grzybowych przeprowadzono identyfikację gatunków grzybów i martwych stawonogów w analizie mikroskopowej stosując różne techniki barwienia.

Stosowane metody przedstawiono jasno i przekonująco a ich wybór i zakres stosowania nie budzą zastrzeżeń.

Badania te prowadzono na próbkach pobranych z terenu objętego ochroną, tj. Parku Narodowego „Bory Tucholskie” w 3-ch typach siedlisk: borowym, szuwarowym i łąkowym oraz jego otuliny. Punkty badawcze przedstawiono na mapach załączonych jako suplement.

Typy siedlisk w których pobierano próbki, scharakteryzowane w podrozdz. „Charakterystyka stanowisk badawczych” wskazują na ich zróżnicowane pod względem uwilgotnienia oraz trofizmu, a czego wyrazem są wykształcone zbiorowiska:

1/ w siedliskach borowych

w borze świeżym: *Leucobryo-Pinetum*, *Cladonio-Pinetum*, *Molinio-Pinetum*;

w borze mieszanym: *Fago-Quercetum petraeae*, *Betulo-Quercetum petraeae*, *Stellario-Carpinetum*;

w borze bagiennym: *Vaccinio uliginosi-Pinetum*,

2/ w siedliskach łąkowo-pastwiskowych:

łąki trzęślicowe (zw. *Molinion*), łąki knieciowe (zw. *Calthion*), łąki rajgrasowe (zw. *Arrhenatherion*), pastwiska życicowe i dywanowe (zw. *Cynosurion*),

3/ w wodno-błotnym: zbiorowiska szuwarowe z klasy *Phragmitetea*

Należy podkreślić, iż prowadzone badania, szczególnie mające na celu oznaczenie taksonów są bardzo pracochłonne, a także często wymagające dopracowania i nieznacznych modyfikacji stosowanych metod.

W tym miejscu chciałabym zadać Doktorantowi pytania dotyczące rozdz. „Metodyka badań”:

1/ Czym kierowano się przy wyborze 60 pól badawczych, które następnie zredukowano do 35 (tutaj Autor wyjaśnił przyczynę)?

2/ Jaka była struktura siedlisk z których pobierano próby ?, tzn. ile dotyczyło siedlisk borowych i jego typów, ponadto łąkowych i szuwarowych? (szkoda iż nie zaznaczono na mapach typu siedliska lub informacji nie przedstawiono w formie tabeli)

3/ Ile pól badawczych zlokalizowanych było w granicach PNBT, a ile w jego otulinie?

4/ Ile w sumie prób pobranych w terenie wykorzystano do dalszych badań laboratoryjnych?

5/ Do jakiej wysokości drzew pobierano próby do badań grzybów entomopatogenicznych?

6/ Na jakiej podstawie stwierdzono u wybranych gatunków zachodzenie procesu epizoocji?

4. Merytoryczna ocena pracy

Całość zebranych materiałów Autor przedstawił w formie oryginalnej, starannie przygotowanej dysertacji.

W bardzo obszernym rozdziale „*Wstęp*”, podzielonym na 12 podrozdziałów Doktorant nakreślił zagadnienia związane z problematyką rozprawy tym samym merytorycznie uzasadnił celowość podjęcia tematu badawczego. Zwraca uwagę wieloaspektowe ujęcie i przedstawienie problemów związanych z grzybami entomopatogenicznymi, poczynając od klasyfikacji taksonomicznej, biologii, ekologii po wykorzystanie ich w zwalczaniu stawonogów powodujących szkody w uprawach rolniczych i leśnych. Szczególnie dużo miejsca poświęca zagadnieniom ich podziału taksonomicznemu przedstawiając charakterystyki grzybów reprezentujących wybrane typy, podtypy i gromady, zwracając uwagę na trudności w ich klasyfikacji, pomimo iż badania molekularne pozwalają niekiedy na weryfikację pozycji systematycznej. Poświęcenie tak dużo miejsca (25 stron) zagadnieniom taksonomii wydaje się być usprawiedliwione, biorąc pod uwagę tytuł pracy i cel prowadzonych badań.

Następne podrozdziały tego rozdziału są także związane, choć być może nie bezpośrednio, z tematem pracy. W nich przedstawiono złożoność procesu infekcji, funkcje biologiczną i ekologiczną metabolitów wtórnych i zastosowanie ich w ochronie roślin, ponadto czynniki środowiskowo-ekologiczne wpływające na populacje grzybów entomopatogenicznych i ich rozmieszczenie na kuli ziemskiej.

Po merytorycznym wprowadzeniu podkreślającym wieloaspektowość problemu Doktorant przedstawił hipotezy badawcze i cele badań.

W kolejnym rozdziale „*Wyniki i dyskusja*” na 16 stronach przedstawiono oryginalne własne wyniki przeprowadzonych badań dokumentując je fotografiami oraz tabelami.

Spośród przedstawionych wyników wymienię te, które uważam za oryginalne osiągnięcia Autora, a ważne z poznawczego i praktycznego punktu widzenia, a mianowicie wykazanie:

- w ściółce leśnej bardzo małej liczby grzybów owadobójczych (14), a te które zidentyfikowano głównie infekowały chrząszcze (z rodzin *Staphylinidae*, *Curculionidae*, *Coccinellidae*), rzadziej pluskwiaki (*Heteroptera*) kokony boreczników (*Diprion* ssp. - w granicach poletek badawczych) bytujące w glebach (głównie przez *Beauveria bassiana*), ponadto muchówki (z rodzin *Sciaridae* i *Mycetophilidae*) występujące na liściach roślin runa i sporadycznie siewek drzew i krzewów (głównie owadomorki),
- obecność stosunkowo dużej liczby gatunków grzybów (11), szczególnie strzępczaków (z rodzaju *Hirsutella*, szczepu gatunków *Lecanicillium*) zarażających owady i roztocza rozwijające się pod korą drzew (z rodzin korniki i kózkowatych),
- w zbiorowiskach łąkowych znacznie większej liczby gatunków entomopatogenicznych (35) strzępczaków, owadomorków, aniżeli w siedliskach borowych,
- występowanie w siedliskach o bardzo dużej wilgotności typowych gatunków grzybów porażających stawonogi,
- rzadkiego masowego porażenia populacji owadów przez grzyby (epizooocji) na terenach PNBT jak i jego otulinie,
- dominacji gatunków grzybów, które sporadycznie notowane były w punktach badawczych.

Niemniej, pomimo prowadzenia długotrwałych badań i obserwacji, a przez to zapewne zebranie dużej liczby wyników uważam, że przeanalizowano je bardzo skromnie, ograniczając się jedynie do wykazania wyróżnionych taksonów. Uważam, iż pobierając próbki z tak różnych typów siedlisk, a które dość szczegółowo scharakteryzowano w podrozdz. 3.1 „Charakterystyka stanowisk badawczych”, można było podjąć próbę przedstawienia zróżnicowania gatunkowego:

- osobno dla każdego z typów siedlisk, tj. boru świeżego, boru mieszanego, łąk trzęślicowych, łąk knieciowych... itd, a ponadto miejsca występowania, tj. gleba, runo, podszyt, warstwa drzew,
- na tle warunków uwilgotnienia i temperatury, tym bardziej, iż Doktorant zarówno w podrozdz. 1.2.5. „Czynniki środowiskowe regulujące populacje grzybów entomopatogenicznych”, jak i rozdz. „Wyniki” (str. 66 i 67) sygnalizuje o takich zależnościach,
- na tle różnorodności florystycznej zbiorowisk wykształconych na poletkach badawczych przy zastosowaniu chociażby najczęściej stosowanych mierników (np. wskaźnika Shannona-Wienera).

W mojej ocenie rozważenie tych zagadnień i poparcie ich wynikami badań wniosłoby nowe aspekty do wiedzy związanej z występowaniem grzybów entomopatogenicznych i możliwości ich ochrony.

Na pozytywne, podkreślenie zasługuje część pracy, w której Autor podjął niełatwe zadanie przeprowadzenia dyskusji wyników, bardzo dobrze wykorzystując szereg pozycji piśmiennictwa. Potrafił w niej zwrócić uwagę na najistotniejsze uzyskane wyniki i wskazać przyczyny zróżnicowania gatunkowego grzybów entomopatogenicznych zarówno w kontekście uwarunkowań siedliskowych ekosystemów, czynników ekologicznych, fizjonomii zbiorowisk oraz stadiów rozwojowych gospodarzy. Sposób przeprowadzenia dyskusji świadczy o dużej umiejętności syntetycznego ujęcia problemu.

Dysertację kończy rozdz. "Podsumowanie i wnioski", który, w mojej ocenie, stanowi bardziej krótkie podsumowanie zagadnień związanych w ogóle z grzybami entomopatogenami. Szkoda, iż w rozdziale tym przedstawiono tylko wnioski ogólne związane z podjętą w pracy problematyką badawczą. Zatem treść tego rozdziału, pomimo związku z zagadnieniem grzybów infekujących owady, jest luźno związana z celem i tytułem pracy, który brzmi: *Zróżnicowanie taksonomiczne grzybów entomopatogenicznych Parku Narodowego „Bory Tucholskie” oraz jego otuliny*. Natomiast bardzo cennym jest fakt, pomimo iż to nie było celem badań, zwrócenia uwagi Doktoranta na potrzebę ochrony tej grupy patogenów.

Niezależnie od pozytywnej oceny pracy i wcześniej już podanych uwag merytorycznych nasuwa się jednak jeszcze kilka uwag, które wymagają wyjaśnienia lub mogą być wykorzystane w trakcie przygotowania pracy do druku lub mogą się przydać w dalszej działalności naukowo-badawczej. Oto, z obowiązku Recenzenta przedstawiam ważniejsze z uwag:

1/ rozdz. „Materiały i metody”

str. 50 – niezrozumiałe jest zamieszczenie w pracy rys.8 , tym bardziej, iż nigdzie w tekście nie ma do niego odniesienia,

str. 52, wiersz 10 od dołu – łąki trzęślicowe są znane jako bogate w gatunki roślin (stąd m.in. są w programach PROW), a nie jak podaje Autor – ubogie,

str.53, wiersz 2 od góry – sądzę, że w składzie gatunkowym pastwisk notowano wiechlinę łąkową (a nie w. roczną) i ponadto prawdopodobnie życie trwała,

str. 54, wiersz 3 od góry – co znaczy, że „*próby pobierano sukcesywnie.....*”- czy w konkretnych odstępach czasowych? czy kierując się stadiami rozwojowymi owadów? czy

wyznacznikiem były optima pojawów owadów? czy terminy optimum porażeń owadów przez grzyby? – uważam, iż terminy te powinny być podane w tym rozdziale, gdyż stanowią one informacje ważne dla ochrony terenów leśnych przed szkodnikami,

2/ rozdz. „Wyniki”

str. 61, wiersz 2-5 od góry – Autor powołuje się na wyniki badań, które nie są poparte żadnymi danymi (brak udokumentowania),

str. 73 – brak numeru i tytułu tabeli

3/ rozdz. „Dyskusja”

str.77, wiersz 8 od dołu – Doktorant, podobnie jak to ma miejsce na str. 61, powołuje się na warunki siedliskowe w kontekście wpływu na liczbę badanych gatunków – przecież tych zależności nie przedstawiono w pracy, a więc należy sądzić, iż nie podlegały ocenie,

4/ rozdz. „Literatura”

- brak odniesienia w tekście pracy pozycji literatury od numeru 216,

5/ ponadto niekiedy trudno określić autorstwo zamieszczonych rycin, tj. czy są one oryginalne Autora, czy pochodzą z publikacji innych autorów (np.: Ryc. 1, Ryc.5, Rys. 7, Ryc. 10), podobna uwaga dotyczy fotografii.

W podsumowaniu, chciałabym stwierdzić, iż dysertacja przedstawia zagadnienia ważne zarówno z punktu widzenia poznawczego jak i aplikacyjnego. Doktorant w stopniu dobrym opanował warsztat naukowy, co wynika z treści całej pracy, umiejętności całościowego ujęcia problemu związanego z grzybami entomopatogenicznymi, a przez to może stanowić kompendium wiedzy z tego zakresu. Dysertacja została przygotowana starannie pod względem edytorskim, i trudno w niej znaleźć uchybienia techniczne. Ponadto recenzowana rozprawa doktorska została wykonana w oparciu o oryginalny materiał badawczy. Jej Autor wykazał się szeroką wiedzą teoretyczną z zakresu omawianej tematyki, dokonał prawidłowej interpretacji wyników, aczkolwiek w mojej ocenie nie wykorzystał, jak sądzę, wszystkich zebranych wyników by odpowiedzieć na postawione cele pracy.

5. Wniosek końcowy

W świetle powyższych danych, oceniam, iż **rozprawa doktorska Pana dr inż. Roberta Cysewskiego pt.: *Zróżnicowanie taksonomiczne grzybów entomopatogenicznych Parku Narodowego „Bory Tucholskie” oraz jego otuliny spełnia warunki określone w art. 13. „Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 r, (Dz. U. Nr 65, poz. 595)***

z późniejszymi zmianami (Ustawa z dnia 27 lipca 2005, „Prawo o szkolnictwie wyższym”, art. 251).

Przedkładałam zatem wniosek do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pana dr inż. Roberta Cysewskiego do dalszego etapu jakim jest publiczna obrona celem zakończenia przewodu doktorskiego i uzyskanie stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.

Poznań, dnia 11 czerwca 2017 r.

