

Prof. zwyczajny dr hab. Jan Kaczmarek

Wrocław, 22.10.12 r.

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Recenzja

Rozprawy habilitacyjnej pt. "Grzyby endofityczne z rodzaju *Neotyphodium* występujące w trawach wieloletnich w Polsce oraz ich znaczenie dla upraw pastewnych i trawnikowych" oraz całokształtu dorobku naukowego doktor Barbary Wiewióry - adiunkta Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB w Radzikowie.

Recenzje wykonałem na podstawie:

- opublikowanej rozprawy habilitacyjnej dr Barbary Wiewióry
- życiorysu i autoreferatu, wykazu osiągnięć w pracy naukowo-badawczej z załączonymi ważniejszymi publikacjami,
- wykazu prac naukowo-badawczych zastosowanych w praktyce.

Informacje wstępne

Pani Barbara Wiewióra urodziła się w 1970 roku w Grabowie. Dyplom magistra inżyniera uzyskała na Wydziale Rolniczym Akademii Rolniczej w Krakowie w 1994 roku, przedstawiając pracę magisterską pt. "Wpływ terminu siewu, rozstawy rzędów i uprawy współrzędnej peluszki z gorczycą na występowanie szkodników na peluszcze" pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Wnuka w Katedrze Ochrony Roślin. W 1996 roku rozpoczyna pracę w IHAR PIB, początkowo jako stażystka, a następnie inżynier, asystent i adiunkt. W 2005 roku Rada Naukowa Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie nadała Jej stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii na podstawie rozprawy doktorskiej pt. "Zdrowotność ziarniaków jęczmienia jarego oplewionego i nieoplewionego w zależności od zaprawiania i przechowywania".

Od stycznia 2006 roku do chwili obecnej pracuje na stanowisku adiunkta w Zakładzie Nasiennictwa i Nasionoznawstwa.

Ocena całokształtu dorobku naukowego

Całokształt przeprowadzonych przez dr Barbarę Wiewiórę badań można zaliczyć do szeroko pojętej dziedziny nauki jaką jest hodowla roślin ze szczególnym uwzględnieniem zagadnień fitopatologicznych w nasiennictwie. Te badania przyczyniły się do podniesienia postępu w hodowli traw i innych roślin uprawnych w rezultacie wzrostu plonów i zdrowotności roślin.

Do czasu habilitacji opublikowała 38 oryginalnych prac twórczych, a ponadto Jej inne osiągnięcia to: 8 monografii, 3 prace przeglądowe oraz 33 doniesienia naukowe. Łączna liczba punktów za publikacje wynosi 194, a impact factor 2,507. Należy podkreślić, że 13 prac twórczych zostało opublikowanych w języku angielskim. Z wykazu publikacji wynika, że 16 opracowań, w tym 3 monografie opracowała samodzielnie, a w pozostałych była współautorką. Zadaniem statutowym IHAR-u jest stworzenie podstaw naukowych do wdrażania postępu w polskiej hodowli. W moim przeświadczeniu niska punktacja IF wynika z tego, że zgodnie z tymi zadaniami statutowymi IHAR PIB, Pani Barbara Wiewióra swoje wyniki z zakresu nasiennictwa adresowała głównie do polskich hodowców i nasienników i dlatego publikowała je głównie w Biuletynie IHAR (19), Phytopatologia Polonica (4), Plant Breeding and Seed Science(2), Pamiętnik Puławski(2) Zeszyty Naukowe AR Kraków(2). Pomimo tego, że Jej publikacje ukazywały się w niżej punktowanych czasopismach to jednak wiele z nich odznacza się bardzo wysoką wartością naukową i praktyczną. Krajowa hodowla potrzebuje takiego wsparcia od polskich naukowców. Osiągnięcia polskiej hodowli są również wynikiem takich badaczy jak pani dr Barbara Wiewióra. Chciałbym dodać, że wiele z tych badań można wykorzystać tylko w kraju i dlatego, szczególnie pracownicy IHAR-u powinni je prowadzić. A zatem Habilitantka osiągnęła znaczny dorobek naukowy zawierający szereg oryginalnych osiągnięć i dlatego zasługuje na uwagę pod względem jakościowym. Należy dodać, że badania fitopatologiczne Habilitantki nad nasionami traw zwłaszcza zasiedlania traw grzybami endofitycznymi można zaliczyć do wiodących w kraju. Ponadto wyniki swoich badań, przedstawiała również na 33 krajowych i zagranicznych konferencjach, sympozjach i kongresach naukowych. Na uznanie zasługuje praktyczne

wykorzystanie osiągnięć naukowych do określenia potencjalnego zagrożenia dla zdrowia zwierząt związanego z występowaniem alkaloidu ergowaliny w paszy. W tym celu zaproponowała wprowadzenie oznakowania odmian na E⁺ z obecnością i E⁻ z brakiem endofitów dla unikania rozprzestrzeniania się grzybów, Podała, które zaprawy nasienne uwalniają nasiona od zasiedlenia grzybami i jakie zaprawy poprawiają zdrowotność w uprawach ekologicznych. Prowadziła ocenę odporności jęczmienia jarego na zgorzel siewek na podstawie wieloletnich wyników ocen podatności roślin na *Biopolaris sorokiniana*. Opracowywała i wprowadziła uzupełnienia do polskiej wersji przepisów ISTA, a dla oceny zdrowotności nasion, organizowała szkolenia dotyczące interpretacji przepisów i ich stosowania w laboratoriach oceny nasion.

Badania Pani Wiewióry są wielowątkowe, jednak głównie koncentrują się wokół zagadnień związanych ze zdrowotnością nasion różnych gatunków roślin. Wyróżniającym się kierunkiem zainteresowań naukowej habilitantki są badania nad grzybami endofitycznymi z rodzaju *Neotyphodium* i *Claviceps purpurea* oraz ich oddziaływanie na wartość siewną różnych gatunków roślin uprawnych i wpływ zaprawiania na ich zdrowotność. Ta część dorobku ma charakter fitopatologiczny i obejmuje 27 oryginalnych prac twórczych. Większość z nich została wykonanych w ramach 7 projektów badawczych, w których pięciokrotnie była kierownikiem: 1/ w latach 2002 -2004 – Wartość siewna nasion jęczmienia nieoplewionego i oplewionego w zależności od zdrowotności ziarniaków, 2/ 2007-2010 – Badanie rozprzestrzeniania się endofitów na trawach w Polsce, ocena zagrożenia dla zwierząt oraz przydatność zasiedlanych roślin w hodowli odmian traw gazonowych, 3/2006-2010 – Badanie zdrowotności ziarna jęczmienia jarego ze szczególnym uwzględnieniem grzyba *Biopolaris sorokiniana*(Sacc) Shoem, sprawcy brunatnej plamistości liści, 4/ 2009 – Badanie mikroorganizmów zasiedlających nasiona traw, 5/ - 2010 -2020 –Zdrowotność materiału siewnego zbóż pochodzącego z różnych rejonów uprawy.

Na wyróżnienie zasługuje 9 publikacji dotyczących badań nad grzybami endofitycznymi z rodzaju *Neotyphodium* oraz grzybów zasiedlających materiał siewny traw i ich wpływ na występowanie chorób w uprawie trawnikowej. Pod względem naukowym bardzo wysoko oceniam dwie publikacje zamieszczone w Biuletynie IHAR nr 256 i 257/8 pt. „Występowanie grzybów endofitycznych na

trwałych użytkach zielonych województwa mazowieckiego” i „Ocena zawartości ergowaliny w trawach runi wybranych trwałych użytków zielonych”. W pierwszej pracy dokonano bardzo ważnych odkryć, polegających na wykazaniu, że obok silnie porażanych gatunków traw, takich jak: *Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *Festuca rubra*, *Festuca arundinacea* występują gatunki wolne od endofitów oraz, że spasanie użytków zielonych sprzyja pojawianiu się endofitów np. u *Festuca rubra*, co może powodować wzrost zagrożenia dla zwierząt ze strony toksyn. W drugiej publikacji podano, że zawartość ergowaliny, toksycznego alkaloidu zależy od genotypu w obrębie danego gatunku, występują bowiem genotypy wolne od alkaloidów. Te odkrycia znalazły praktyczne zastosowanie w polskiej hodowli.

Innymi wyróżniającymi się osiągnięciami naukowymi Habilitantki są publikacje pt. „Ocena zasiedlenia przez grzyby endofityczne nasion wybranych mieszanek traw pastewnych dostępnych na rynku krajowym” (Biul.IHAR-256), oraz publikacje pt. „Porównanie metody mikroskopowej i immunologicznej do wykrywania grzybów endofitycznych w nasionach traw”(Biul.IHAR 242) i „Endophyte occurrence in breeding strains of meadow fescue (*Festuca pratensis*) cv Pasja” . Do najważniejszych wniosków można zaliczyć stwierdzenie, że mieszanki traw w handlu są zasiedlone grzybami endofitycznymi, najczęściej są to: nasiona życicy trwałej, kostrzewy czerwonej i wiechliny łąkowej. Badania porównawcze dwóch metod odpowiedziały na pytanie, która analiza badawcza jest tańsza i efektywniejsza w wykrywaniu grzybów endofitycznych. W trzeciej publikacji odkryto charakter zmienności w zasiedleniu endofitami poszczególnych rodów hodowlanych odmiany Pasja. Bardzo ważnym odkryciem było wykazanie, że w materiale bazowym występowały rody wolne od endofitów. Nie potwierdzono jednak, czy interakcja biotypów patogena z genotypami żywiciela jest determinowana genetycznie.

Odrębne zagadnienie, w stosunku do dotychczas omawianych podejmuje dr Barbara Wiewióra w związku z pojawianiem się chorób młodych roślin traw szczególnie w pierwszym roku użytkowania trawników. W literaturze naukowej można znaleźć dużo informacji o przyczynach występowania chorób. Badania własne potwierdziły zależność między zasiedlaniem nasion przez chorobotwórcze mikroorganizmy, a występowaniem chorób w uprawie

trawnikowej. W pracy pt. "Mikroorganizmy zasiedlające nasiona traw i ich wpływ na występowanie chorób w uprawie trawnikowej" podaje, że aż 53 gatunki grzybów zasiedlały nasiona, w wśród nich były też mikroorganizmy chorobotwórcze. W pracy tej ukazuje różnice między krajowym i zagranicznym materiałem siewnym pod względem zasiedlania nasion grzybami patogenicznymi i analizuje występowanie chorób w doświadczeniach polowych. Stwierdza, że szczególnie grzyby z rodzaju *Fusarium* i *Rizoctonia solani* mogą stanowić dodatkowe źródło chorób.

Obszerne badania nad problematyką zdrowotności oplewionych i nieoplewionych ziarniaków jęczmienia i jej wpływ na cechy wartości siewnej stały się podstawą opracowania pracy doktorskiej obronionej w 2005 roku. Stwierdzono w niej, że ziarniaki nagie są w mniejszym stopniu zasiedlane przez mikroorganizmy niż oplewione. Grzyby patogeniczne pogarszały wartość siewną poprzez obniżenie zdolności kiełkowania oraz były przyczyną chorób. Wnioski płynące z tych badań skłoniły autorkę do kolejnego cyklu doświadczeń nad wykorzystaniem zaprawiania i przechowywania nasion do poprawy wartości siewnej oraz wpływu tych zabiegów na występowanie patogenów i chorób.

Bardzo wartościowy element dorobku naukowego Habilitantki stanowi 6 publikacji w których zajęto się wnikliwą oceną zdrowotności nasion kolendry i majeranku. Okazało się że te gatunki są w niewielkim stopniu zasiedlane przez grzyby. W dwóch publikacjach przedstawiła wyniki analiz materiału siewnego zbóż pochodzących z ekologicznych plantacji nasiennych. Stwierdziła, że niską wartość siewną można poprawić przez stosowanie naturalnych zapraw, takich jak gorąca woda i roztwór sody.

Za działalność naukową była wyróżniona przez dyrektora IHAR PIB w 2007 roku.

Oceniając całokształt dorobku naukowego stwierdzam, że odznacza się on wysoką wartością naukową mającą praktyczne zastosowanie w poprawieniu zdrowotności nasion, wartości siewnej i ograniczeniu chorób na plantacjach. Chciałbym też podkreślić, że większość uzyskanych wyników ma pionierski charakter, chociaż opublikowane zostały w polskich czasopismach o niższej punktacji.

Dorobek Habilitantki zyskał duże uznanie w środowisku naukowym i hodowlanym w Polsce. Należy dodać, że badania fitopatologiczne, dotyczące zwłaszcza zdrowotności nasion i roślin można zaliczyć do wiodących w Polsce.

Ocena rozprawy habilitacyjnej

Twórczym rozwinięciem wcześniej prowadzonych badań jest rozprawa habilitacyjna „Grzyby endofityczne z rodzaju *Neotyphodium* występujące w trawach wieloletnich w Polsce oraz ich znaczenie dla upraw pastewnych i trawnikowych”. Dotyczy ona: skali występowania endofitów w roślinach i nasionach zbiorowisk trawiastych, przydatności do hodowli ekotypów traw zasiedlonych przez te grzyby, występowania ergowaliny – szkodliwego alkaloidu produkowanego przez endofity w polskich ekotypach traw oraz przeżywalności grzybów w nasionach przy różnych warunkach przechowywania i ich chemicznej eliminacji. Endofity bardzo ściśle współżyją z gospodarzem, dając roślinie pewne korzyści. Zasiedlone przez te grzyby rośliny nie wykazują żadnych negatywnych objawów. Stąd też bez specjalistycznych badań nie można określić stopnia zagrożenia zatrucia zwierząt alkaloidami produkowanymi przez endofity. Wtórnią ideą zaplanowanych badań było uzyskanie pewności, czy spasanie zwierząt mieszankami traw z użytków zielonych w Polsce jest bezpieczne dla zwierząt. Różne gatunki traw w niejednakowym stopniu są zasiedlane przez endofity i dlatego powstała potrzeba określenia ich skłonności do porażania się przez te grzyby.

Aby odpowiedzieć na postawione hipotezy badawcze Habilitantka przeprowadza bardzo szerokie i kompleksowe badania obejmujące 4-eksperymenty naukowe polegające na: 1/ zbadaniu zasiedlania przez endofity ekotypów traw pochodzących z różnych rejonów Polski z uwzględnieniem intensywności użytkowania i warunków wilgotnościowych, 2/ określeniu zawartości ergowaliny produkowanej przez te grzyby, 3/ zbadaniu stopnia zasiedlenia nasion, ich przeżywalności oraz 4/ możliwości eliminacji endofitów z nasion.

Zawarty w odrębnych rozdziałach opis materiału i zastosowanych metod, a także udokumentowane natężenie intensywności użytkowania i wilgotności siedliska stanowiły logiczną podstawę opracowania zmienności wyników i ich

interpretacji. Badania wykonano na 645 ekotypach traw na roślinach zebranych w kilku ekspedycjach, w różnych rejonach kraju charakteryzujących się dużą powierzchnią użytków zielonych. Materiał zebrano z wszystkich województw, jednakże w wybranych obszarach trzech województw: podlaskiego, kujawsko-pomorskiego i świętokrzyskiego penetracja była najintensywniejsza. Część materiału otrzymano z Ogródu Botanicznego IHAR i firm hodowlanych i nasiennych. W czasie penetracji gromadzono również informacje o rodzaju i natężeniu użytkowania i warunkach wilgotnościowych siedliska. Zebrany materiał badawczy należał do 26 gatunków traw. Łącznie obejmował 591 ekotypów. Obserwacje i analizy laboratoryjne przeprowadzano przez kilka lat (2007 – 2010), a zestaw ocenianych obiektów zmieniał się w czasie w zależności od konkretnego eksperymentu i jego celu badawczego.

Bardzo interesujące i wyczerpujące jest wprowadzenie, kończące się celem pracy i zakresem jego realizacji. Godnym podkreślenia jest wykorzystanie przez Autorkę dużego zestawu 284 pozycji światowej literatury z czego 92,7% stanowią publikacje obcojęzyczne. Z podanego spisu literatury 72 pozycje opublikowano w ostatnim dziesięcioleciu. Po zapoznaniu się ze wstępem, przeglądem literatury i dyskusją, nabrałem przekonania, że Pani Barbara Wiewióra wykazała się doskonałą znajomością światowej literatury z zakresu poruszanych zagadnień w rozprawie habilitacyjnej.

W rozdziale „wyniki badań”, Habilitantka opisała i przedstawiła w 22 tabelach rezultaty eksperymentów oraz graficznie na licznych fotografiach, mapach i rysunkach. Pokazała w nich zasiedlenie przez endofity ekotypów traw pochodzących z różnych rejonów Polski, zależność pomiędzy intensywnością użytkowania, a występowaniem endofitów i wilgotnością podłoża, zawartością ergowaliny produkowanej przez grzyby, stopień zasiedlania nasion u wybranych gatunków traw, przeżywalność nasion w czasie ich przechowywania, próbę eliminacji endofitów z nasion oraz przydatność dla celów trawnikowych wybranych ekotypów porażonych endofitami. Opisane w pracy wyniki badań, stanowią bardzo dobrą podstawę doskonalenia użytków zielonych. Uzyskanie tych informacji świadczy o wysokich umiejętnościach Habilitantki do wielostronnej oryginalnej analizy danych eksperymentalnych. W moim przekonaniu rozprawa jest opracowaniem na wysokim poziomie naukowym. To stwierdzenie uzasadniam następująco:

Po raz pierwszy w Polsce wykonano tak kompleksowe badania nad grzybem endofitycznym z rodzaju *Neotyphodium*. Ten rodzaj grzyba ściśle współżyje z gospodarzem (różnymi gatunkami traw) nie wywołując u nich objawów chorobowych. Z jednej strony dzięki zasiedleniu przez endofity, gospodarz ma większą odporność na stresy biotyczne i abiotyczne, jednakże z drugiej strony niektóre mykotoksyny wytwarzane przez tego grzyba (lolitrem B i ergowalina) są toksyczne dla zwierząt gospodarskich. Ponadto inny alkaloid (peramina) jest toksyczny i powoduje ich odstraszanie.

Wprawdzie w literaturze światowej można znaleźć informacje o podatności gatunków traw na zasiedlanie endofitami, to jednak w polskich warunkach określenie podatności i zmienności w stopniu zasiedlenia zaliczam do dużego osiągnięcia naukowego. W najwyższym stopniu zasiedlane są: życica trwała, życica wielokwiatowa, kostrzewa łąkowa, kostrzewa trzciniowa, kostrzewy czerwona, kostrzewa owcza. Habilitantka stwierdziła, że na 26 badanych gatunków 15 nie było zasiedlanych przez grzyby endofityczne. Do osiągnięć zaliczam podanie wykazu gatunków najsilniej zasiedlanych oraz zamieszczenie po raz pierwszy w literaturze informacji o zasiedleniu endofitami śmiałka darniowego i wiechliny łąkowej. Do znaczących osiągnięć zaliczam też wyodrębnienie 2 rejonów (podlaskie i świętokrzyskie) o największym stopniu zasiedlenia roślin przez endofity, w których może wystąpić zagrożenie zwierząt przez mykotoksyny.

Badania nad mykotoksynami produkowanymi przez grzyby z rodzaju *Neotyphodium* ograniczyła do ergowaliny, jednego z bardziej toksycznych i najczęściej wytwarzanych. Do ważnych osiągnięć w tym zakresie zaliczam wymienienie 9 gatunków traw u których na terenie Polski produkowana i gromadzona jest ergowalina jak również stwierdzenie, że chociaż niektóre gatunki gromadzą znaczne ilości szkodliwych dla zdrowia alkaloidów, to w naszych warunkach użytki zielone składają się z wielu gatunków traw, łącznie nawet z roślinami dwuliściennymi i dlatego stężenie alkaloidów jest minimalne i nie stanowi zagrożenia dla zdrowie zwierząt. Z naukowego i hodowlanego punktu widzenia za oryginalne osiągnięcie naukowe uznaję odkrycie specyficznej interakcji między endofitem, a żywicielem, który hamuje grzybowi możliwość syntezy alkaloidów przez grzyba. U tych genotypów ergowalina wytwarzana jest w bardzo małej ilości. W niektórych przypadkach

homowanie jest tak silne, że ergowalina w ogóle nie jest wytwarzana. Takie ekotypy mogą być materiałem wyjściowym do tworzenia odmian o ograniczonej zawartości mykotoksyn.

Za bardzo ważne i cenne uznaję wskazanie zaprawy nasiennej, która skutecznie uwalnia nasiona z zasiedlających je grzybów endofitycznych.

Wzajemna symbioza jest korzystna dla roślin przeznaczonych na cele trawnikowe, powoduje bowiem większą odporność odmian na stresy środowiskowe i lepszy wygląd trawnika. Autorka więc proponuje dwukierunkową hodowlę: 1/ z obecnością endofitów na cele trawnikowe, i 2/ dla uniknięcia mykotoksyn bez zasiedlenia grzybami, na cele paszowe. Trudno jest zgodzić się z takim poglądem Autorki. Uważam, że obecność grzybów endofitycznych zarówno dla odmian trawnikowych jak i paszowych jest korzystna. Dla uniknięcia szkodliwych mykotoksyn można wykorzystać w hodowli materiały, które gromadzą alkaloidy w bardzo ograniczonej ilości. W przypadku potrzeby wysiewu odmian na cele paszowe w monokulturze istnieje przecież możliwość skutecznego wyeliminowania endofitów z nasion przed siewem stosując odpowiednią zaprawę nasienną.

Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne

Pani Barbara Wiewióła może poszczycić się osiągnięciami dydaktycznymi i organizacyjnymi, chociaż jako pracownik Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB nie miała obowiązku prowadzenia zajęć dydaktycznych. Dlatego też godną uwagi jest jej działalność służąca wdrażaniu osiągnięć naukowo-technicznych w ramach seminariów dla pracowników laboratoriów nasiennych. Uczestniczyła w tych seminariach jako kierownik merytoryczny i wykładowca. Przygotowywała na nie materiały szkoleniowe, tłumaczyła z języka angielskiego przepisy ISTA i opracowywała zmiany oraz uzupełnienia w ich polskiej wersji. Była kierownikiem 2 szkoleń dotyczących metod oznaczania śnieci na ziarniakach pszenicy i zdrowotności oraz identyfikacji patogenów na nasionach traw. Sprawowała opiekę nad jedną pracą magisterską obronioną w SGGW. Od 2011 jest członkiem redakcji Journal of Life Sciences. Na podkreślenie zasługuje jej aktywność w pozyskiwaniu środków finansowych na badania. Po doktoracie w latach 2007 – 2012 kierowała 5 projektami badawczymi. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Pani Barbara Wiewióra legitymuje się oryginalnym dorobkiem i uznanym w krajowym i zagranicznym środowisku naukowym. Faktycznie od dawna można ją uznać za samodzielnego pracownika naukowego o wyraźnie sprecyzowanym profilu badawczym. Ma dobrze opanowany warsztat badawczy, który ciągle rozwija, doskonali i unowocześnia. Dorobek naukowy Habilitantki, rozprawę habilitacyjną oceniam jednoznacznie bardzo wysoko. Może się również poszczycić osiągnięciami dydaktycznymi i organizacyjnymi, a szczególnie prowadzeniem autorskich wykładów i ćwiczeń na seminariach i szkoleniach.

Stwierdzam, że bez wątplenia wartościowy i oryginalny dorobek, a zwłaszcza nowatorstwo rozprawy habilitacyjnej, stanowiącej liczący się wkład w podstawy naukowe nasiennictwa traw i innych roślin uprawnych, spełniają warunki określone w art. 16 i 17 Ustawy o stopniach i tytule naukowym (Dz.U. Nr 65 z dnia 14.03. 2003 r.).

Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzenia zwracam się zatem do Rady Naukowej IHAR PIB o przyjęcie recenzji i dopuszczenie Pani Barbary Wiewióry do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. Jan Kaczmarek