

Prof. dr hab. Barbara Adomas, prof. zw.  
Katedra Chemii  
Zespół Toksykologii Środowiska  
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa  
Uniwersytet Warmińsko Mazurski  
w Olsztynie

Olsztyn, 03 styczeń 2020 roku

## **RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**mgr Magdaleny Anny Podbielskiej**

**pt. „Wpływ komercyjnego preparatu biologicznego na degradację wybranych fungicydów”**

Promotor pracy: **dr hab. inż. Ewa Szpyrka, prof. UR**

Promotor pomocniczy: **dr Małgorzata Kus-Liśkiewicz, Uniwersytet Rzeszowski**

Recenzję pracy doktorskiej mgr Magdaleny Anny Podbielskiej wykonano zgodnie z uchwałą Rady Naukowej Instytutu Nauk Biologicznych Uniwersytetu Marii Curie - Skłodowskiej w Lublinie, na podstawie pisma Pani prof. dr hab. Anny Jarosz - Wilkołazkiej Dyrektor Instytutu z dnia 22.11.2019 roku.

Praca doktorska mgr Magdaleny Anny Podbielskiej składa się z rozdziałów, w ramach których wyodrębniono dodatkowe podrozdziały, co czyni to obszerne dzieło bardziej przejrzystym. Cała praca liczy 134 strony maszynopisu i oprócz tekstu zawiera 36 tabel i 56 rysunków oraz wykaz stosowanych skrótów. Piśmiennictwo obejmuje 177 pozycji, z czego aż 77% stanowią pozycje obcojęzyczne, które pod względem merytorycznym cytowane są w sposób prawidłowy oraz 6 adresów internetowych. Układ pracy jest logiczny i spełnia wymagania stawiane dysertacjom doktorskim.

Tytuł pracy jest adekwatny do zawartej w niej treści. Praca w zdecydowanej większości napisana została językiem zrozumiałym i poprawnym stylistycznie, umożliwiającym logiczne śledzenie i analizę przedstawionych wyników ich dyskusję, podsumowanie i wnioski. Praca wpisuje się w nurt badań zrównoważonego stosowania środków ochrony roślin zgodnie z dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/128/WE oraz Rezolucji Parlamentu Europejskiego z dnia 12 lutego 2019 r. w sprawie wdrażania dyrektywy 2009/128/WE, zobowiązujących kraje członkowskie UE do stosowania w pierwszej kolejności metod niechemicznych i ekologicznych. Do takich metod zaliczyć można wykorzystanie preparatów

biologicznych zawierających szczepy bakterii i grzybów do rozkładu substancji czynnych (s.cz.) wybranych fungicydów w podłożach hodowlanych i jabłkach, aby chronić zdrowie ludzi, zwierząt i środowisko.

**Rozdział 1. Wstęp** na 26 stronach wprowadza w tematykę pracy, której celem była ocena degradacji wybranych s.cz. fungicydów przez szczepy bakterii *Bacillus subtilis* PMC 486 i grzyba *Trichoderma harzianum* KKP 534 oraz ich mieszanin. Badania prowadzono w warunkach laboratoryjnych (na podłożach hodowlanych) i polowych (w sadach jabłoni). Doktorantka wnikliwie i logicznie uzasadnia wybór podjętego tematu badań. Charakteryzuje środki ochrony roślin. Podkreśla rolę jabłek w żywieniu człowieka, zwraca uwagę na ich właściwości odżywcze i lecznicze. Opisuje najważniejsze choroby jabłoni i zaznajamia czytelnika z ochroną sadów jabłoniowych. Przedstawia podział, rolę i znaczenie środków ochrony roślin w nowoczesnym sadownictwie i rolnictwie. Charakteryzuje wybrane do badań s.cz. fungicydów oraz zwraca uwagę na ryzyko pozostałości s.cz. w jabłkach. Przedstawia degradację pestycydów w glebie, organizmach roślinnych i zwierzęcych. Doktorantka konkludując stwierdza, że wzrastająca świadomość społeczeństwa dotycząca zagrożeń związanych ze stosowaniem chemicznych środków ochrony roślin, przyczyniła się do podejmowania działań, które mają na celu ograniczenie ryzyka środowiskowego i zdrowotnego - związanego ze świadomym wprowadzaniem do środowiska tych ksenobiotyków. W celu zmniejszenia ryzyka od 1 stycznia 2014 roku wszyscy użytkownicy środków ochrony roślin mają obowiązek stosowania zasad Integrowanej Ochrony Roślin, której podstawą jest wykorzystanie w pierwszej kolejności metod niechemicznych, spośród których najbardziej powszechne są metody biologiczne. W metodach tych s.cz. środka ochrony roślin są organizmy żywe np. bakterie czy grzyby, a nie syntetyczne związki chemiczne. Wstęp konsekwentnie i przekonująco uzasadnia wybór podjętej tematyki badawczej i dowodzi bardzo dobrej orientacji Doktorantki w bieżącym piśmiennictwie specjalistycznym.

**Rozdział 2. Cel i zakres pracy.** Rozdział ten zawiera jasno sformułowany cel i dwie syntetyczne hipotezy badawcze oraz sześć elementów składających się na zakres pracy, których realizacja posłużyła do weryfikacji podjętej hipotezy badawczej.

**Rozdział 3. Część doświadczalna.** Ten rozdział został szczegółowo opisany na 25 stronach wzbogaconych o 9 tabel przedstawiających m.in. schemat doświadczeń laboratoryjnych, schemat pobierania próbek, czy warunki pracy chromatografu gazowego i cieczowego oraz 8 rysunków i 2 fotografie. Uzupełnienie tego rozdziału o schematy, tabele, fotografie i rysunki ułatwia czytelnikowi orientację w kolejnych etapach wyznaczonego logicznie planu pracy.

Cześć doświadczalna składa się z sześciu podrozdziałów oraz dwudziestu paragrafów są to; 3.1. Badania laboratoryjne z sześcioma paragrafami; 3.2. Badania polowe z czterema paragrafami; 3.3. Oznaczanie pozostałości substancji czynnych z ośmioma paragrafami; 3.4. Wyznaczanie kinetyki zanikania substancji czynnych; 3.5. Oznaczanie mikotoksyn w próbkach jabłek z dwoma paragrafami oraz 3.6. Analiza statystyczna.

**Badania laboratoryjne** Doktorantka przeprowadziła przy użyciu testów *in vitro*, gdzie szczepy bakterii *B. subtilis* oraz gatunek grzyba *T. harzianum*, a także ich mieszaniny narażone były na badane s.cz. fungicydów: fluopyramu, tebukonazolu, boskalidu, pyraklostrobiny i pentiopiradu - celem ocenienia ich stopnia rozkładu oraz określenia stężeń badanych s.cz. hamujących/bójczych rozwój bakterii, grzybów i ich mieszanin. Z inkubowanych mikroorganizmami podłoży Doktorantka okresowo pobierała próby do analiz chemicznych w celu określenia stężeń s.cz. oraz aktywności metabolicznej komórek bakterii. Następnie ekstrahowała s.cz. fungicydów, a ekstrakty analizowała techniką chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas.

**Badania polowe.** Pobrane losowo próby jabłek z dwóch gospodarstw sadowniczych posłużyły Doktorantce do oznaczenia pozostałości s.cz. fungicydów przy wykorzystaniu dwóch metod. Do analizy prób jabłek pobranych w 2016 roku zastosowano metodę polegającą na ekstrakcji analitów z matrycy stałej (LSE, ang Liquid Soil Extraction). Pozostałości s.cz. w ekstraktach oznaczono techniką chromatografii gazowej z detekcją wychwytu elektronów ( $\mu$ EC) i aztowo-fosforową (NP). Z kolei ekstrakty prób jabłek pobranych w 2017 i 2018 roku przygotowano metodą Quechers, a pozostałości oznaczono techniką chromatografii gazowej z wykorzystaniem spektrometrii mas. Przed rozpoczęciem badań obie metody zostały zwalidowane w zakresiach: liniowości, poprawności, precyzji i granicy oznaczalności. Następnie Doktorantka za pomocą poprawnie opisanego wzoru wyznaczyła kinetykę zanikania badanych substancji czynnych. Ten zakres pracy jest rozszerzeniem problematki badawczej, którą od paru lat zajmuje się promotor pracy - Pani dr hab.inż. Ewa Szyrka, prof. UR. Z uwagi na fakt, że zastosowane w doświadczeniach preparaty biologiczne zawierały grzyby, próby jabłek przeanalizowano na obecność mikotoksyny (patuliny, trichotecenów i zearalenonu). Oznaczeń tych dokonało Laboratorium Mikotoksyn Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy.

**Analiza statystyczna.** Uzyskane wyniki średnie zostały ocenione za pomocą programu Microsoft Office Excel, stosując test t Studenta dla prób niezależnych z rozkładem dwuśladowym.

Na uwagę zasługuje bogaty warsztat badawczy jakim posługiwała się Doktorantka realizując plan badań. Prowadziła badania laboratoryjne *in vitro*, które konfrontowała z uzyskanymi wynikami polowymi *in vivo* i równie praco- i czasochłonnymi analizami chemicznymi. Wykonanie zaplanowanych badań wymagało od Doktorantki umiejętności dokonania wyboru mikroorganizmów i substancji czynnych fungicydów, wyboru użytych podłoży oraz ustalenia stężeń testowanych substancji czynnych, pobierania i przygotowania prób do badań. Ta część doświadczalna wymagała opanowania umiejętności przeprowadzenia testów MIC (Minimum Inhibitory Concentration) i MBC (Minimum Bactericidal/Fungicidal Concentration) z spektrofotometryczną identyfikacją oraz analizy instrumentalnej dotyczącej oznaczania pozostałości s.c.z. fungicydów w podłożach hodowlanych i jabłkach.

**Rozdział 4. Wyniki badań.** Oznaczanie degradacji s.c.z. fungicydów w podłożach hodowlanych wymagało od Doktorantki opracowania metod ekstrakcji s.c.z. oraz spełnienia założonych parametrów walidacji. Podłożem hodowlanym dla bakterii *B. subtilis* był bulion odżywczy. Mimo przetestowanych sposobów i efektywności ekstrakcji (w układzie ciecz-ciecz oraz Quechers), a także zastosowania metody Carreza oraz doboru odczynników, nie uzyskano jego rozdziału na fazę organiczną i nieorganiczną. Dopiero 10-krotne rozcieńczenie bulionu odżywczego dało zadowalający wynik odzysku, a jednocześnie zapewniło przeżywalność bakterii. Drugim testowanym podłożem, było podłoże mineralne (M9). Wybierając podłoże dla grzybów, po uprzednim przetestowaniu, wybrano bulion glukozowo - ziemniaczany. Kolejnym etapem badań było przeprowadzenie walidacji metod w podłożach hodowlanych oraz jabłkach, które Doktorantka prawidłowo określiła. Dowiodła, że otrzymane wyniki walidacji spełniają wymagania określone w dokumencie SANTE (średnie odzyski 70-120% i precyzji  $\leq 20\%$ ).

**Badania laboratoryjne.** W wyniku przeprowadzonych testów żywotności (w okresie 14 dni) dla komórek bakterii *B. subtilis* Doktorantka dowiodła, że najmniejszą żywotnością odznaczały się komórki narażone na działanie tebukonazolu w stężeniu 100  $\mu\text{g/ml}$ , zaś największą komórki narażone na boskalid. Po 24 godzinach narażenia bakterii *B. subtilis* na działanie fluopyramu, boskalidu i pentiopiradu, nie obserwowano hamowania wzrostu bakterii. Również grzyby okazały się być najbardziej wrażliwe na tebukonazol, gdyż hamowanie wzrostu grzybnii obserwowano już od stężenia 0,2  $\mu\text{g/ml}$ .

W celu określenia degradacji s.c.z. fungicydów przez bakterie, grzyby i ich mieszaniny Doktorantka przeprowadziła dziewięć doświadczeń laboratoryjnych, podczas których przebadła 270 prób. Uzyskane wyniki są dobrze opracowane i przedstawione w sposób przejrzysty.

Doświadczenie 1. W tym doświadczeniu oceniono wpływ szczepów bakterii *B. subtilis* na degradację s.c.z. fluopyramu i tebukonazolu zawartych w preparacie handlowym Luna Experience 400 SC. Badania degradacji wykonano po 0, 3, 5, 7 i 14 dniach narażenia. Doktorantka odnotowała degradację fluopyramu od 2% po 5 dniach do 10% po 14 dniach, a tebukonazolu od 0,2 do 0,5% odpowiednio.

Doświadczenie 2. Dotyczyło oceny reakcji bakterii *B. subtilis* na degradację s.c.z. boskalidu i pyraklostrobiny zawartych w preparacie Bellis 38 WG po 0, 3, 5, 7 i 14 dniach narażenia. Po 14 dniach stwierdzono degradację boskalidu, która wahała się od 0,6 do 3,6%, zaś pyraklostrobiny do 3,6%.

Doświadczenie 3. W tych badaniach Doktorantka wykazała, że pentiopirad (Fontelis 200 SC) degradowany był przez bakterie w 9,6% po 14 dniach narażenia.

Doświadczenie 4. Doktorantka oceniała wpływ szczepów grzyba *T. harzianum* na degradację s.c.z. fluopyramu i tebukonazolu zawartych w preparacie handlowym Luna Experience 400 SC. Narażenie badano po 0, 3, 5, 7 i 14 dniach. W zależności od czasu narażenia odnotowała degradację fluopyramu na poziomie od 74,3 do 81,7%. Stopień degradacji tebukonazolu był niższy, bo wahał się od 44,5 do 49,2%.

Doświadczenie 5. Tu oceniano wpływ grzyba *T. harzianum* na degradację s.c.z. boskalidu i pyraklostrobiny fungicydu Bellis 38 WG. W zależności od zastosowanego stężenia s.c.z. i czasu narażenia, po 14 dniach stwierdzono degradację boskalidu od 79,6 do 82,5%. Degradacja pyraklostrobiny była bardzo wysoka, bo wynosiła od 99,2 do 99,4%.

Doświadczenie 6. W tym doświadczeniu testowano wpływ szczepów grzyba *T. harzianum* na degradację pentopiradu s.c.z. fungicydu Fontelis 200 SC. Stopień degradacji badanej s.c.z. zależał od jej stężenia i czasu narażenia i wynosił 34,2 % po 3 dniach do 56,9 % po 14 dniach.

Doświadczenie 7. Polegało na ocenie mieszaniny kultur bakterii *B. subtilis* oraz grzyba *T. harzianum* na degradację fluopyramu i tebukonazolu s.c.z. preparatu Luna Experience 400 SC. Doktorantka ustaliła, że stopień rozkładu fluopyramu przez mieszaninę mikroorganizmów wynosił od 8,3 do 24,1% a tebukonazolu od 2,5 (po 5 dniach) do 23,3% po 14 dniach.

Doświadczenie 8. W tych badaniach stwierdzono, że mieszanina kultur bakterii *B. subtilis* i szczepów grzyba *T. harzianum* degradowała boskalid i pyraklostrobinę na podobnym poziomie, odpowiednio od 64,7 do 66,8%, oraz od 63,2 do 64,6%, w zależności od stężenia s.c.z. i czasu narażenia.

Doświadczenie 9. Doktorantka dowiodła, że pentiopirad (s.c.z. preparatu Fontelies 200 SC) był degradowany przez *B. subtilis* i *T. harzianum* w 23,7-29,1%, zaś stopień degradacji zależał od stężenia fungicydu i czasu narażenia mikroorganizmów.

**Badania polowe.** Doświadczenia polowe przeprowadzono w dwóch gospodarstwach sadowniczych w latach 2016 - 2018 na pięciu odmianach jabłoni: Red Jonaprince, Gloster, Golden Delicious, Boskoop i Gala. Ochronę drzew przed chorobami przeprowadzono zgodnie z Dobrą Praktyką Rolniczą, próby jabłek pobrano zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 17 października 2007. W trakcie badań monitorowano warunki pogodowe: temperaturę i opady. W sadach zgodnie z etykietą zastosowano trzy fungicydy: Bellis 38 WG (s.c.z. boskalid, pyraklostrobina), Luna Experience 400 SC (fluopyram, tebukonazol) i Fontelies 200 SC (pentiopirad) oraz preparat biologiczny Zumb Plan®. W dziesięciu tabelach (27-36) Doktorantka przedstawiła wyniki badań dotyczące pozostałości s.c.z. Na podstawie otrzymanych danych określiła zależności między stężeniem s.c.z. a czasem jej rozkładu. Wyznaczyła krzywe zanikania s.c.z. w jabłkach przy użyciu modelu matematycznego opisującego równanie kinetyczne dla reakcji pierwszego rzędu. Z uzyskanych równań obliczyła czas połowicznego zanikania każdej s.c.z., a o poprawności wyznaczonego modelu świadczy wysoki współczynnik korelacji.

Pozostałości s.c.z. w jabłkach oznaczono z wykorzystaniem dwóch metod. Do analiz próbek jabłek pobranych w 2016 roku zastosowano metodę polegającą na ekstrakcji analitów z matrycy stałej (LSE, Liquid Solid Extraction). Pozostałości s.c.z. boskalidu i pyraklostrobiny w ekstraktach jabłek oznaczono techniką chromatografii gazowej z detekcją wychwytu elektronów ( $\mu$ EC) i azotowo-fosforową ((NP)). A ekstrakty z jabłek pobranych w roku 2017 i 2018 przygotowano metodą Quechers, zaś pozostałości oznaczono techniką chromatografii gazowej z wykorzystaniem spektrometrii mas. Przed rozpoczęciem badań obie metody zostały zwalidowane w zakresie: liniowości, poprawności, precyzji i granicy oznaczalności. Biorąc pod uwagę fakt dużego zainteresowania producentów, praktyków i społeczeństwa wykorzystania biologicznych metod degradacji s.c.z. w warunkach polowych, podjęte przez Doktorantkę badania są niezwykle cenne. Uzyskane wyniki dotyczące rozkładu pozostałości s.c.z. badanych fungicydów w jabłkach przez testowane mikroorganizmy są szczególnie ważne, ponieważ w literaturze brak jest danych dotyczących wpływu mikroorganizmów stosowanych w warunkach polowych na poziom pozostałości s.c.z. fungicydów w jabłkach.

**Rozdział 5. Dyskusja.** Różnorodność uzyskanych wyników z doświadczeń laboratoryjnych i polowych stanowiła wyzwanie w trakcie ich interpretacji jak i konfrontacji z literaturą, z czym Doktorantka dobrze sobie poradziła. Na ponad 10 stronach dyskusji Doktorantka

przedstawiła dane, które są kompatybilne z dwoma głównymi nurtami w jakich zostały zaprezentowane wyniki. Pierwszy etap dotyczył wyznaczenia w warunkach laboratoryjnych (*in vitro*) stopnia rozkładu wybranych s.c.z. fungicydów przez szczepy bakterii *B. subtilis* i gatunek grzyba *T. harzianum* oraz ich mieszanin, drugi dotyczył sprawdzenia w warunkach polowych (*in vivo*), czy zalecany do stosowania w Integrowanej Ochronie Roślin preparat biologiczny zawierający szczepy wyżej wymienionych bakterii i grzybów, wpływa na rozkład s.c.z. fungicydów. W dyskusji zostały wyodrębnione trzy podrozdziały: pierwszy omawia s.c.z. fluopyramu i tebukonazolu, w drugim Doktorantka dyskutuje z danymi innych autorów badających boskalit i pyraklostrobinę, zaś w trzecim poddaje konfrontacji swoje wyniki dotyczące pentiopiradu. Podrozdziały te zostały poprzedzone zwięzłym podsumowaniem wyników własnych w konfrontacji z literaturą przedmiotu. Podsumowanie początkowe dyskusji, jak i końcowe oraz konfrontacja uzyskanych wyników dotyczących poszczególnych s.c.z. fungicydów, mikroorganizmów i preparatu biologicznego z literaturą, dowodzą wszechstronnej znajomości specjalistycznego piśmiennictwa. Doktorantka analizując s.c.z. tebukonazol stwierdza, że brak jest danych literaturowych dotyczących degradacji tej s.c.z. w warunkach laboratoryjnych. Nowe dane dotyczą także degradacji i kinetyki zanikania pozostałości fluopyramu w jabłkach. Cenne wyniki, to także te, które określają czas zanikania pentiopiradu s.c.z. preparatu handlowego Fontelis 200 SC wprowadzonego na rynek Polski w 2015 roku. Doktorantka wzbogaca również literaturę krajową w nieznane dotąd informacje określające degradację pentiopiradu przez mikroorganizmy w warunkach polowych.

**Rozdział 6. Wnioski.** Siedem końcowych wniosków znajduje pełne uzasadnienie w uzyskanych wynikach, które dostarczają oryginalnych i nowatorskich danych ważnych z punktu widzenia nowoczesnej ochrony roślin, bezpieczeństwa żywności i ryzyka środowiskowego. Informują o największym stopniu degradacji s.c.z. fluopyramu i najmniejszym dla tebukonazolu przez bakterie *B. subtilis* w warunkach laboratoryjnych. Dowodzą, że w warunkach laboratoryjnych grzyb *T. harzianum* w największym stopniu degradował pyraklostrobinę (83,7 - 99,4%), zaś w najmniejszym tebukonazol (44,5 - 49,2%). Natomiast mieszane kultury obu mikroorganizmów w największym stopniu degradowały boskalid (64,7 - 66,8%), zaś najmniejszym tebukonazol (2,5 - 23,3%). Na tej podstawie Doktorantka dowiodła, że największy wpływ na degradację badanych s.c.z. miał grzyb *T. harzianum*, mniejszy - mieszane kultury bakterii i grzybów, a najmniejszy bakterie *B. subtilis*. Spośród pięciu testowanych s.c.z. fungicydów tylko tebukonazol hamował rozwój bakterii w stężeniu 100 µg/ml, zaś grzyba w stężeniu 500 µg/ml. Natomiast w warunkach polowych w największym stopniu bo w 52% degradowany był boskalid przez bakterie

*B. subtilis* i grzyba *T. harzianum* - mikroorganizmy zawarte w preparacie handlowym Zumba Plant®, aplikowanym w uprawie jabłek odmiany Gloster, a w najmniejszym, bo tylko w 0,5% tebukonazolu, w odmianie Gala. Jabłka pobrane z jabłoni chronionych chemicznie nie zawierały mikotoksyn: patuliny, trichotecenów i zearalenonu.

**Rozdział 10. Literatura.** Zawiera 177 pozycji i 6 źródeł internetowych prawidłowo dobranych, opisanych i cytowanych.

Analizując pracę zauważyłam drobne nieścisłości, które z obowiązku recenzenta chciałabym przekazać Autorce.

### Uwagi do pracy

1. Tytuł pracy brzmi „Wpływ komercyjnego preparatu biologicznego na degradację wybranych fungicydów”. Autorka dobrze zna budowę chemiczną środków ochrony roślin i jak sama pisze badała wybrane substancje czynne fungicydów. Dlatego uważam, że tytuł powinien brzmieć „Wpływ komercyjnego preparatu biologicznego na degradację wybranych substancji czynnych fungicydów”.
2. W badaniach naukowych, cel pracy poprzedza hipoteza badawcza. Natomiast Doktorantka przedstawiła cel pracy a następnie hipotezę badawczą. Hipoteza badawcza w sposób logiczny została sformułowana z obszernego wprowadzenia, podobnie cel pracy. Jednak przedstawiono je w odwrotnej kolejności.
3. Podrozdziały, rozdziału Wstęp „Charakterystyka wybranych substancji czynnych fungicydów” i „Choroby jabłoni i ochrona sadów jabłoniowych” powinni być umieszczone w rozdziale Materiał i metody, a nie we Wstępie pracy.
4. Rozdział Wstęp szczególnie na stronach 6, 7, 24 napisany jest językiem niejednoznacznym, ponieważ zawiera ogólne stwierdzenia, które nie są wyjaśniane np. na str. 6 „Przede wszystkim należy mieć tu na uwadze toksyczny wpływ na zdrowie człowieka i środowisko oraz rozwój oporności na patogeny roślin i szkodniki”. Co Autorka rozumie pod pojęciem „...toksyczny wpływ na zdrowie człowieka ...”, co Autorka miała na myśli pisząc „...rozwój oporności...” czy może odporności ?, ponieważ kwestii tej nie rozwija. Lub niżej w 25 wierszu od góry „Stanowi to bezpośrednią przyczynę narażenia zdrowia konsumenta po ekspozycji na pestycydy”, jaką „...ekspozycję na pestycydy...” ma Autorka na myśli ?



5. W tekście Wstępu na str. 6, w 10 wierszu od dołu Autorka powołuje się na publikację Chance 2000 z błędnym rokiem wydania, natomiast w spisie literatury podaje właściwy rok ukazania się tej publikacji Chance G,W. 2001.; na str. 7, w 6 wierszu od góry jest niepoprawnie napisane nazwisko - Biziuk 2001, a powinno brzmieć Biziuk M. 2001.
6. W rozdziale Wstęp na str 23, wiersz 23 od góry, wskaźnik toksyczności LD<sub>50</sub> dla tebukonazolu wynosi 1700, zaś LD<sub>50</sub> dla boskalidu i pyraklostrobiny jest  $\geq 5000$  - brakuje jednostek, drogi wnikania, badanego organizmu oraz czasu narażenia.
7. Rozdział 3. „Część doświadczalna” powinien być zatytułowany Materiał i metody, ponieważ w tej części Doktorantka wymienia materiały i metody, które zastosowała do przeprowadzonych doświadczeń laboratoryjnych i polowych.
8. W pracy zabrakło też charakterystyki używanych mikroorganizmów w kontekście warunków oraz tempa wzrostu i rozwoju, namnażania i cyklu życia.
9. Czym Doktorantka kierowała się badając narażanie bakterii *Bacillus subtilis* i grzybów *Trichoderma harzianum* oraz ich mieszanin po 0, 3, 5, 7 i 14 dniach?
10. Czym Autorka kierowała się oceniając pozostałości substancji czynnych fungicydów w jabłkach dwoma metodami ?
11. Na str. 40, w wierszu 16 w nazwie odmiany jabłek jest błąd Gloden Delicious, poprawnie Golden Delicious.
12. Drobną uwagę – badamy próby, a nie próbki.

Pragnę zaznaczyć, że wykazane nieścisłości w żadnym stopniu nie umniejszają wartości pracy, którą oceniam wysoko.

### **Podsumowanie i wnioski**

Praca doktorska Pani mgr Magdaleny Anny Podbielskiej została dobrze zaplanowana, wykonana i opisana. Badania te wymagały opanowania metodologii badań laboratoryjnych i polowych oraz analizy instrumentalnej dotyczącej oznaczania pozostałości substancji czynnych fungicydów w podłożach hodowlanych oraz jabłkach. Rozprawa doktorska opiera się na dużej liczbie analiz i oryginalnych wynikach prac doświadczalnych, które wnoszą nowe elementy do literatury przedmiotu. W mojej ocenie, opiniowana rozprawa doktorska zawiera rozwiązania ważne z środowiskowego punktu widzenia, związane z ryzykiem stosowania chemicznych środków ochrony roślin i bezpieczeństwem żywności. Jednak niezmiernie ważnym elementem rozprawy jest dokonana ocena stopnia degradacji substancji czynnych

pięciu fungicydów przez wybrane bakterie i grzyby oraz mieszaniny ich kultur, zarówno w warunkach laboratoryjnych, ale przede wszystkim w warunkach polowych.

Mając powyższe na uwadze stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Magdaleny Anny Podbielskiej spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawie doktorskiej zgodnie z art. 13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017r. poz. 1789) oraz ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. - Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 r. poz. 1669) i stawiam wniosek do Rady Naukowej Instytutu Nauk Biologicznych Uniwersytetu Marii Curie - Skłodowskiej w Lublinie o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Anny Podbielskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*B. Adomas*

Prof. dr hab. Barbara Adomas, prof. zw.