



dr hab. Magdalena Arasimowicz-Jelonek, prof. nadzw. UAM
Zakład Ekofizjologii Roślin
Wydział Biologii
Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu
ul. Umultowska 89,
61-614 Poznań

Poznań, 21.01.2019

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Emila Stefańczyka

pt.: „Zróżnicowanie zdolności chorobotwórczych patogenów ziemniaka: *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary i *Fusarium* spp. ”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska magistra Emila Stefańczyka została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Jadwigi Śliwki, w Zakładzie Genetyki i Materiałów Wyjściowych Ziemniaka, Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowego Instytutu Badawczego (IHAR-PIB), Oddział w Młochowie. Praca ma formę spójnego tematycznie cyklu trzech oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w latach 2016-2018, w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR). W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

1. Stefańczyk E., Sobkowiak S., Brylińska M., Śliwka J. (2016) Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland. *European Journal of Plant Pathology* 145:871-884;
2. Stefańczyk E., Sobkowiak S., Brylińska M., Śliwka J. (2017) Expression of the potato late blight resistance gene *Rpi-phul* and *Phytophthora infestans* effectors in the compatible and incompatible interactions in potato. *Phytopathology* 107: 740-748;

3. Stefańczyk E., Brylińska M., Brurberg M.B., Naerstad R., Elameen A., Sobkowiak S., Śliwka J. (2018) Diversity of *Avr-vnt1* and *AvrSmiral* effector genes in Polish and Norwegian populations of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 67: 1792-1802.

Łączna wartość wymienionych publikacji według kryteriów MNiSW (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi 100 punktów, a wartość współczynnika IF według listy JCR wynosi 6,817. Wszystkie publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej są publikacjami wieloautorskimi, w których mgr Stefańczyk jest pierwszym autorem, a Jego udział w powstaniu tych prac wynosi od 45% do 65%. Z załączonych oświadczeń wynika, że Doktorant wykonał większość analiz laboratoryjnych, brał udział w opracowaniu koncepcji badań, analizach bioinformatycznych, interpretacji wyników, pisaniu oraz przygotowaniu manuskryptów zgodnie z wymogami wydawnictw. Należy podkreślić, że w pracy opublikowanej we współpracy z zespołem norweskim (*Plant Pathology*, 2018), mgr Stefańczyk jest również autorem korespondencyjnym. Złożone oświadczenia współautorów poszczególnych prac, jednoznacznie potwierdzają dominujący wkład Doktoranta w tworzenie i realizację badań będących podstawą rozprawy doktorskiej.

Zbiór trzech artykułów stanowiących przedmiot dysertacji, opatrzony jest wykazem publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, streszczeniem w języku polskim i angielskim oraz dość obszernym komentarzem w języku polskim, obejmującym *Przegląd literatury*, *Cel badań*, *Materiały i metody*, *Omówienie wyników*, *Podsumowanie uzyskanych wyników*, *Obserwacje i wnioski* oraz *Literaturę*. Z pewnością komentarz mógłby być nieco krótszy (34 strony), szczególnie w odniesieniu do podrozdziału *Przegląd literatury*, który pomimo swojej objętości, został jasno zredagowany, co świadczy o bardzo dobrej znajomości literatury przedmiotu. Komentarz wstępny do publikacji wchodzących w skład rozprawy, napisany jest poprawnym językiem i przedstawia logiczny tok rozumowania, ułatwiając analizę wyników zawartych w cyklu publikacji. W końcowej części komentarza mgr Stefańczyk przedstawia 10 wniosków szczegółowych, które moim zdaniem, z powodzeniem można zredukować bez większego uszczerbku dla wartości całej rozprawy. Szkoda, że do



oryginalnych prac twórczych nie dołączono tzw. informacji uzupełniających w postaci dodatkowych tabel i rycin, co w rzeczywistości dałoby pełniejszy obraz szerokiego spektrum analiz, jakie złożyły się na ostateczną wersję podjętych problemów badawczych. Ostatnią składową pracy doktorskiej są oświadczenia współautorów poszczególnych publikacji wchodzących w skład rozprawy.

Nadrzędnym celem przedłożonej mi do recenzji pracy doktorskiej było określenie zróżnicowania izolatów ważnych gospodarczo patogenów ziemniaka o odległych pozycjach systematycznych tj. *Fusarium* spp. oraz *Phytophthora infestans*, wraz z poznaniem wpływu tej zmienności na interakcję z rośliną-gospodarzem. Zespół naukowy, którym kieruje Pani prof. dr hab. Jadwiga Śliwka od lat prowadzi badania istotne dla hodowli odpornościowej ziemniaka, wyjaśniając m.in. genetyczne i molekularne podstawy odporności tego gatunku na *P. infestans*. Postawione przez Doktoranta cele szczegółowe poszerzają główny nurt badawczy Zespołu, a ponadto są ważne z punktu widzenia biologii patogenów ziemniaka, jak również szczegółowo charakteryzują strukturę polskich populacji *P. infestans* oraz *Fusarium* spp..

Pierwsza praca cyklu (opublikowana w 2016) koncentruje się na sprawcach suchej zgnilizny bulw ziemniaka tj. grzybach z rodzaju *Fusarium*. W badaniach zastosowano bogatą próbę obejmującą 149 izolatów pozyskanych z 352 bulw ziemniaka zebranych z różnych lokalizacji w Polsce oraz z kolekcji IHAR-PIB. W efekcie zidentyfikowano 12 gatunków *Fusarium*. Dla 119 izolatów przeprowadzono testy patogeniczności, co pozwoliło wyodrębnić cztery gatunki patogeniczne względem czterech odmian ziemniaka, przy czym wskazano wewnątrzgatunkowe zróżnicowanie patogeniczności. Dalsze analizy molekularne udokumentowały, że zdolność do wytwarzania mykotoksyn nie jest determinantem patogeniczności badanych przedstawicieli *Fusarium*. Należy podkreślić, że przeprowadzone analizy zaowocowały zdeponowaniem 434 sekwencji genów w bazie NCBI GeneBank.

Kolejne dwie prace dotyczą interakcji ziemniak-*P. infestans*. W pracy opublikowanej w *Phytopathology* (2017), zastosowano wysoce zdefiniowany układ badawczy obejmujący linie hodowlane ziemniaka ze zróżnicowanym spektrum genów odporności *Rpi-phul* i *Rpi-*



Smiralis. Zastosowane podejście umożliwiło precyzyjną ocenę odporności roślin z wybranymi genami *R*, a także monitorowanie ekspresji *R* genów gospodarza oraz genów awirulencji agresora, podczas reakcji kompatybilnej i niekompatybilnej z *P. infestans*. Z uwagi na fakt, że interakcja roślina-patogen stanowi układ bardzo dynamiczny, za bardzo cenną uważam analizę ekspresji genów w różnych punktach czasowych po inokulacji. Na tej podstawie, wykazano m.in., że mechanizm unikania rozpoznania efektoru *Avr-vnt1* przez rośliny wyposażone w gen *Rpi-phul* polega na wyłączeniu jego transkrypcji podczas biotroficznej fazy infekcji. Dalsze dociekania Doktoranta koncentrują się na analizie zróżnicowania sekwencji genów efektorowych *Avr-vnt1* i *AvrSmiralis*, co zaprezentowano w pracy *Plant Pathology* (2018). W tym przypadku, układ badawczy obejmował 91 izolatów pozyskanych z obszaru Polski i Norwegii oraz 5 izolatów referencyjnych. Identyfikacja polimorfizmów pojedynczych nukleotydów wskazała wyższe zróżnicowanie wśród sekwencji efektoru *AvrSmiralis* u obu badanych populacji *P. infestans*. Wykazanie, że polimorfizm aminokwasów efektoru *AvrSmiralis* w pozycjach 156 i 170 może mieć związek z wirulencją badanych izolatów, a jednocześnie nie stanowi kluczowego mechanizmu unikania rozpoznania patogenu uważam za niezwykle istotne dla zrozumienia strategii ofensywnej patogenów grzybopodobnych.

Reasumując, wyniki badań uzyskane w toku trzech omawianych prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr. Emila Stefańczyka mają dużą wartość poznawczą w aspekcie zrozumienia mechanizmów wirulencji patogenicznych mikroorganizmów oraz są niezwykle wartościowe dla hodowli odpornościowej ziemniaka. Różnorodne podejścia doświadczalne przyczyniły się do opublikowania wyników w prestiżowych czasopismach z zakresu fitopatologii. Zarówno publikacje, jak i komentarz wstępny do dysertacji poparte są odpowiednio dobranymi cytowaniami. Analizując całość przedstawionej do oceny pracy, nasuwa się kilka pytań, na które nie znalazłam odpowiedzi w treści komentarza oraz w kolejnych manuskryptach, stąd proszę o ustosunkowanie się do nich:



- Na jakiej podstawie wnioskowano w układzie ziemniak–*P. infestans* o przejściu patogenu z fazy biotroficznej w nekrotroficzną?
- Czy w trakcie badań nad ekspresją genów na poziomie transkryptu, wytypowano również inne geny referencyjne niż α -tubulina (ziemniak) i czynnik elongacji translacji 2- α (*P. infestans*)?
- Biorąc pod uwagę uzyskane wzory ekspresji *R* genów odporności ziemniaka i genów kodujących efekторы *P. infestans* w pierwszym dniu interakcji, które prowadzą do rozwoju lub zahamowania choroby: czy nie należałoby poszerzyć badań również o wczesne terminy po inokulacji tj. kolejne godziny po inokulacji? Wiedza ta, z patofizjologicznego punktu widzenia, mogłaby przybliżyć wczesne zdarzenia badanych interakcji.
- Co zdecydowało o wyborze populacji norweskiej do analiz nad zróżnicowaniem sekwencji genów efektorowych *P. infestans*?

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca wpisuje się w nowoczesne, oparte na wieloaspektowym podejściu, badania nad odpornością roślin na patogeniczne mikroorganizmy. Pan mgr Emil Stefańczyk wykazał bardzo dobre umiejętności w zakresie posługiwania się różnorodnymi metodami badawczymi, a sposób opracowania rozprawy i duża swoboda poruszania się w omawianym temacie świadczą o dojrzałości naukowej Doktoranta. Podkreślę, że wyniki weryfikujące postawione w pracy hipotezy badawcze zostały już wcześniej ocenione i skorygowane przez edytorów i recenzentów czasopism.



Wniosek końcowy

W świetle przedstawionej, bardzo pozytywnej oceny pracy doktorskiej mgr. Emila Stefańczyka wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie, biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy przeprowadzonych badań oraz dojrzałą dyskusję uzyskanych wyników, wnoszę o wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą.

dr hab. Magdalena Arasimowicz-Jelonek, prof nadzw. UAM



dr hab. Magdalena Arasimowicz-Jelonek, prof. nadzw. UAM
Zakład Ekofizjologii Roślin
Wydział Biologii
Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu
ul. Umultowska 89,
61-614 Poznań

Poznań, 22.01.2019

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgra Emila Stefańczyka
pt.: „Zróżnicowanie zdolności chorobotwórczych patogenów ziemniaka: *Phytophthora*
***infestans* (Mont.) de Bary i *Fusarium* spp. ”**

Niniejszym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie o przyznanie wyróżnienia przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej mgr. Emila Stefańczyka pt.: „Zróżnicowanie zdolności chorobotwórczych patogenów ziemniaka: *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary i *Fusarium* spp. ”.

Jak podkreśliłam w recenzji, problematyka podjęta przez Doktoranta wpisuje się w nowoczesne, oparte na wieloaspektowym podejściu, badania nad odpornością roślin na patogeniczne mikroorganizmy. W szczególności, Pan mgr Stefańczyk dostarczył unikalnych wyników dla zrozumienia strategii ofensywnej patogenów grzybowych i grzybopodobnych. Za najważniejsze, unikalne osiągnięcia przedłożonej mi do recenzji rozprawy uważam:

- wykazanie, że zdolność do wytwarzania mykotoksyn u badanych przedstawicieli *Fusarium* nie jest determinantem patogeniczności względem ziemniaka;
- charakterystykę zróżnicowania sekwencji efektorów *Avr-vnt1* i *AvrSmiral* pomiędzy polską a norweską populacją *P. infestans*;
- udokumentowanie, że polimorfizm aminokwasów efektora *AvrSmiral* w pozycjach 156 i 170 może mieć związek z wirulencją *P. infestans*, przy czym nie stanowi kluczowego mechanizmu unikania rozpoznania patogen.

Potwierdzeniem wyróżniającego warsztatu badawczego jest cykl publikacji wydanych w prestiżowych czasopismach z listy JCR (IF–6,817; MNiSW–100 pkt) z zakresu fitopatologii, w których Doktorant jest autorem pierwszym, a w jednej również korespondencyjnym.

dr hab. Magdalena Arasimowicz-Jelonek, prof. nadzw. UAM

ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
tel. +48 61 829 55 56, fax. +48 61 829 56 36
biologia@amu.edu.pl