

prof. dr hab. Piotr Masojć
Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Recenzja pracy doktorskiej mgr Urszuli Joanny Piechoty

pt.: „Identyfikacja genów odporności na mączniaka prawdziwego zbóż (*Blumeria graminis* f. sp. *Hordei*) w odmianach miejscowych jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.)”

w ramach przewodu wszczętego w dziedzinie nauki rolnicze, w dyscyplinie agronomia w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie

Na wstępie pragnę podkreślić bardzo trafny wybór tematu badawczego pracy, który ma duże znaczenie dla rozwoju dyscypliny agronomia w dziedzinie nauk rolniczych. Mączniak prawdziwy to jedna z groźniejszych chorób grzybowych jęczmienia, a patogen stanowiący źródło zakażenia jest zdolny do szybkiej ewolucji w kierunku wykształcenia nowych zjadliwych ras, stając się coraz trudniejszym do pokonania. Dodajmy do tego małą zmienność genetyczną współczesnych odmian jęczmienia, a więc pewną bezbronność wyselekcjonowanego materiału hodowlanego do stawiania czoła przyszłym zmutowanym formom patogena. Temu poważnemu zagrożeniu dla przyszłych i obecnych upraw jęczmienia wychodzi naprzeciw praca mgr Urszuli Piechoty.

Zaprezentowane w pracy podejście do opisanego problemu hodowlanego jest bardzo profesjonalne – wykorzystuje możliwości zaawansowanych technik molekularnych oraz wiedzy genetycznej, a także dostępu do cennych materiałów kolekcji jęczmienia i patogena zgromadzonych przez profesorów Pawła i Henryka Czembora. Po pierwsze trafny jest wybór materiału badawczego. Skoncentrowano się na dwóch liniach jęczmienia pochodzących z Afryki Północnej, będących nowymi, nie zbadanymi dotąd źródłami odporności. Stworzony z tych źródeł materiał genetyczny w postaci mieszańców F_2 i F_3 z odmianą wrażliwą stanowi doskonały materiał do badań. Do tego wykorzystane są kolekcje izolatów patogena oraz kolekcje linii jęczmienia niosących znane geny odporności, umożliwiające weryfikację nowego źródła odporności na tle poznanych już wcześniej genów. Zabezpieczona jest także populacja mogąca testować alleliczność nowych genów odporności wobec znanego genu z chromosomu 2H. Dysponując precyzyjnie dobranym materiałem genetycznym mgr Urszula Piechota przeprowadziła dobrze przemyślaną analizę genetyczną, której uwieńczeniem jest otrzymanie

mapy genetycznej chromosomów 2H i 6H opartej na wysoce specyficznych markerach AS-DaRT konwertowanych z wyodrębnionych wcześniej markerów DaRT Seq. Z kolei analiza sprzężeń markerów DaRT seq umożliwiła konstrukcję map pozostałych chromosomów jęczmienia i udowodnienie z zastosowaniem testu Kruskala-Wallisa, iż odporność z dwóch nowych źródeł dziedziczy się jednogenowo. Jednogenowe dziedziczenie odporności stwierdzono także analizując pokolenia F₂ i F₃ mieszańców poprzez ocenę porażenia w skali czterostopniowej i zastosowanie testu Chi-kwadrat. Mamy więc tu do czynienia z potwierdzeniem sposobu dziedziczenia cechy przy użyciu dwóch niezależnych metod, co dowodzi bardzo gruntownego podejścia Doktorantki do rozwiązania zagadnienia badawczego. Dzięki analizie wyprowadzonych pokoleń ustalono, że gen odporności występujący w linii 255-3-3 jest dominujący i znajduje się w dystalnym regionie krótkiego ramienia chromosomu 2H. Z kolei gen pochodzący z linii 173-1-2 jest recesywny i lokalizuje się na długim ramieniu chromosomu 6H. Odrębność genu z chromosomu 2H w stosunku do wcześniej wykrytego na tym chromosomie genu *MILa* potwierdzono także odrębnym testem alleliczności na specjalnie do tego wyprowadzonym potomstwie F₂ z użyciem właściwego izolatu patogena. Wykrycie dwóch nowych dla nauki genów odporności na mączniaka u jęczmienia należy uznać za wybitne osiągnięcie naukowe. Ma ono również doniosłe znaczenie aplikacyjne, gdyż Doktorantka wykazała dla zidentyfikowanych genów szerokie spektrum odporności na izolaty *Blumeria graminis* z terenu Polski oraz opracowała sekwencje markerów specyficznych allelicznie, które mogą być pomocne w hodowli odpornościowej odmian jęczmienia. Uwieńczeniem pracy jest przeszukanie dostępnych światowych baz danych genomu jęczmienia w celu przypisania sekwencji markerów AS-DaRT z regionu nowo odkrytego genu odporności na mączniaka na chromosomie 6H do znanych sekwencji genowych. Udało się wyodrębnić cztery geny o znanej funkcji białka, które powinny być w dalszych badaniach sprawdzane czy nie spełniają kryterium genów kandydatów.

Podsumowując merytoryczną ocenę pracy stwierdzam jej wysoki poziom naukowy, właściwy dobór metod i materiałów badawczych wzorcowo skonstruowane wielopłaszczyznowe doświadczenie i wartościowe wyniki badań o dużym znaczeniu aplikacyjnym.

Z formalnego punktu widzenia praca jest prawidłowo opracowana. Jasny tekst wstępu wraz z trafnym określeniem celów pracy dobrze wprowadza w zagadnienie badawcze. Przegląd literatury wystarczająco dokładnie zarysowuje aktualny stan badań i wyjaśnia

zagadnienia badawcze związane z tematem pracy. Opis metodyki nie budzi zastrzeżeń, natomiast opis wyników jest może za bardzo syntetyczny. Bogaty materiał ilustracyjny znacznie ułatwia analizę uzyskanych rezultatów. Dyskusja świadczy o dużej dojrzałości Autorki w ocenie swoich wyników na tle innych prac. Podaje szereg wyników literaturowych dla poświadczenia iż zidentyfikowane geny są nowe dla nauki. Praca zaopatrzona jest też w podsumowanie, wnioski, które uznaję za uzasadnione oraz streszczenia w języku polskim i angielskim, spis skrótów oraz starannie i właściwie dobraną listę cytowanej literatury światowej dotyczącej przedmiotu pracy. Podoba mi się jasny i syntetyczny tekst całości rozprawy napisany dobrym stylem, co świadczy o umiejętności jasnego wyrażania myśli w języku polskim. Autorka nie ustrzegła się przed kilkoma błędami redakcyjnymi, głównie w rozdziale Dyskusja np. str. 71 wers 10 od dołu- „w na chromosomie”, str. 73 „Podczas infekcji metabolizmu cukru”, „syntazy sacharozy”, „geny kandydujące wynikają z analizy markerów.” Te niedopatrzona składam na karb pośpiechu widocznego w końcowych fragmentach pracy. Natomiast bardzo spodobało mi się umieszczenie w przeglądzie literatury mapy genów odporności opisanych przez innych autorów oraz schematu mechanizmu obrony rośliny przed infekcją. Obie ilustracje znacznie ułatwiają zrozumienie dotychczasowej wiedzy specjalistycznej o podjętym przez Autorkę problemie.

Wniosek pierwszy jest oczywistością, a wniosek drugi chociaż oddaje najważniejsze osiągnięcie pracy jest trochę niezręcznie sformułowany. Jedyne uwagi jakie mam do komunikatywności pracy dotyczą przedstawionej mapy całości genomu użytej do testowania istotności związku markera z cechą testem Kruskala-Wallisa (nie została ona objaśniona, opisana w tekście) oraz map chromosomu 2H i 6H. Nie jest to wystarczająco jasno ujęte na jakiej liczbie osobników powstały mapy z markerów AS-DaRT. Ponadto brakuje objaśnienia, w jaki sposób zostały skonstruowane mapy zgodności prezentowane w pracy?

Do dyskusji podczas obrony pracy mam też kilka pytań:

1. Do wyodrębnienia markerów sprzężonych z genem bardzo słusznie do analizy wyselekcjonowano tylko homozygoty skrajne pod względem odporności/wrażliwości na mączniaka. Zastanawia mnie jednak dość duży rozrzut tych markerów na mapie 2H i ich ułożenie tylko po jednej stronie genu, a przecież na mapie 2HPAV-DaRT udało się zmapować markery po stronie dystalnej w stosunku do genu odporności. Jak to można wyjaśnić?

2. Czy nie lepiej byłoby użyć do map DArT wszystkich osobników z populacji F₂, a dopiero później szukać markerów najbliższych sprzężonych i tylko te konwertować do AS-DArT?
3. Dlaczego numery markerów z sąsiedztwa genu na 6H na mapie AS-DArT nie odzwierciedlają tych z mapy PAV-DArT?

Podsumowując całość recenzji stwierdzam, że praca doktorska mgr Urszuli Joanny Piechoty stanowi wartościowe naukowo opracowanie znacząco poszerzające naszą wiedzę na temat genów odporności jęczmienia względem *Blumeria graminis* a tym samym przyczyniające się do rozwoju dyscypliny agronomii w dziedzinie nauki rolniczej. Wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowego Instytut Badawczy w Radzikowie o dopuszczenie mgr Urszuli Joanny Piechoty do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na dużą rangę naukową i użyteczną wartość wyników tej pracy doktorskiej oraz wzorcowo opracowaną metodologię badań, a także szeroki zakres prac genetycznych i fitopatologicznych wnioskuję o wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą.

Szczecin 22.01.2020


prof. dr hab. Piotr Masojć

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Urszuli Joanny Piechoty

pt.: „Identyfikacja genów odporności na mączniaka prawdziwego zbóż (*Blumeria graminis* f. sp. *Hordei*) w odmianach miejscowych jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.)”

Z uwagi na dużą rangę naukową i użyteczną wyników tej pracy doktorskiej oraz wzorcowo opracowaną metodologię badań, a także szeroki zakres prac genetycznych i fitopatologicznych wnioskuję o wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą. Najważniejsze osiągnięcia tej pracy uzasadniające mój wniosek o wyróżnienie to:

1. Wysoka ranga naukowa odkrycia polegającego na identyfikacji i zmapowaniu dwóch nowych dla nauki światowej genów odporności na mączniaka u jęczmienia.
2. Przeprowadzenie wzorcowej metodycznie, nowoczesnej i wielopłaszczyznowej analizy genetycznej w aspekcie fitopatologicznym oraz molekularnym i genomowym.
3. Opracowanie markerów allelo-specyficznych dla wykrytych genów, które mogą zostać wykorzystane w praktycznej hodowli – duża ranga aplikacyjna pracy.

Szczecin, 22.01.2020 r.

prof. dr hab. Piotr Masojć