

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Jarosława Nowosielskiego pt. „Zróżnicowanie genetyczne odmian i populacji miejscowych fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.) uprawianych w Polsce”, wykonana na zlecenie Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB w Radzikowie

Rozprawa obejmuje 149 stron maszynopisu w tym 73 strony treści, tabelaryczny spis stosowanych skrótów, spis 297 pozycji literatury oraz załączniki, tj. 24 tabele, 30 rycin i 2 przypisy – pierwszy zawiera opis fasoli wg Kluka (1787 r.), a drugi opis fasoli z orłem wg Rosner (2003 r.) za Rouppert (1923 r.) i Dobrucką-Roniewicz (1923 r.). Na końcu rozprawy załączono spis tabel i rycin. Dysertację podzielono na tradycyjne rozdziały (Wprowadzenie, Cel pracy, Przegląd piśmiennictwa, Materiał, Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski oraz Streszczenie), a gdy zaszła potrzeba ze szczegółowymi podrozdziałami do trzeciego stopnia. Rozprawa napisana jest syntetycznym – naukowym, ale ładnym i komunikatywnym językiem z wyjątkiem jednego „potworka” (markery redundantne).

Ochrona bioróżnorodności otaczającego nas środowiska jest jednym z najważniejszych zadań cywilizacji, a ochrona bioróżnorodności zwierząt i roślin użytkowych ma znaczenie szczególne. Światowe kolekcje i banki genów mają bardzo bogate zbiory, ale efektywne wykorzystanie zależy od ich szczegółowego opracowania i charakterystyki. Obiektem badań Doktoranta była fasola – jedna z trzech najważniejszych roślin strączkowych uprawiana w świecie na około 50 mln ha. W światowych kolekcjach zgromadzono ponad 260 tys. obiektów z czego 22,6% znajduje się w trzech ośrodkach, w Kolumbii, USA i Niemczech. Polska kolekcja liczy ponad 3 tys. obiektów i jest to wystarczająco dużo, aby jej przydatność dla użytkowników wymagała szczegółowej analizy i charakterystyki, m.in. dotyczących zróżnicowania genetycznego i miejsc pochodzenia. Określone przez Doktoranta hipotezy badawcze zakładały, że zasoby genowe fasoli zgromadzone w Krajowym Centrum Roślinnych

Zasobów Genowych wykazują duże zróżnicowanie genetyczne, odzwierciedlające zróżnicowanie światowe, a będące ich częścią populacje miejscowe nie stanowią odrębnej puli genetycznej w stosunku do odmian uprawnych. Dla ich weryfikacji przyjęto następujące cele badań:

- ocena zmienności i struktury genetycznej wybranych odmian i populacji miejscowych fasoli zwyczajnej, zgromadzonych w KCRZG,
- wykazanie genetycznej odrębności populacji miejscowych w oparciu o markery molekularne,
- wybór obiektów do utworzenia kolekcji podstawowej, tzw. „core collection”,
- podjęcie próby określenia pochodzenia fasoli zwyczajnej w Polsce.

Niezbędne i szczególnie wartościowe dla realizacji badań było opracowanie literatury. Doktorant zgromadził wyjątkowo duży zbiór, obejmujący zarówno historyczne, „kultowe” pozycje (modelowym przykładem są historyczne opracowania Kluka z 1787 r., Korohody (1938), ale także Roupperta (1923) i Dobruckiej-Roniewicz (1923) dotyczące fasoli z orłem), jak i zawierające wyniki badań z ostatniej dekady, dotyczące zarówno obiektu badawczego, problematyki ochrony zasobów genowych oraz metodyki badań dla realizacji przyjętych celów. Całość można określić opracowaniem encyklopedycznym, zasługującym na wyróżnienie, w którym Doktorant wykazał się wiedzą z zakresu klasyfikacji botanicznej i użytkowej gatunku, jego wartości odżywczej, wymagań środowiskowych i uprawy, procesu udomowienia, rozprzestrzeniania w rejonach pochodzenia i użytkowania i związanych z tym pul genowych oraz wykorzystania metod molekularnych w badaniach nad rodzajem *Phaseolus*. Kolejne dwa rozdziały poświęcone są materiałowi badawczemu i zastosowanym metodom.

Materiałem badawczym było 289 obiektów fasoli spośród 3 tys. obiektów kolekcji KCRZG IHAR w tym odmiany uprawne oraz populacje miejscowe zebrane podczas ekspedycji kolekcyjnych, reprezentujące 18 makroregionów Polski. Materiał ten, szczegółowo

przedstawiony w tabeli 2 i 3 stanowił około 10% krajowych zbiorów kolekcyjnych fasoli, a więc był wystarczająco liczny i reprezentatywny dla dwu typów pochodzenia. Opracowanie stosowanych metod obejmuje procedurę dotyczącą oceny i analizy cech morfologicznych, genotypowania metodą AFLP oraz analizy danych – skupień, wariacji molekularnej, głównych współrzędnych i struktury genetycznej badanych obiektów. Opisano także postępowanie dotyczące wytypowania kolekcji podstawowej.

Zasadniczej informacji, dotyczącej wartości przeprowadzonych badań dostarczają wyniki. Rozdział ten opracowano bardzo starannie i szczegółowo, stopniowo przedstawiając wyniki świadczące o realizacji kolejnych celów. Na początku oceniono wiarygodność i przydatność metody AFLP, a następnie dokonano analizy zróżnicowania materiału roślinnego z uwzględnieniem podziału fizycznogeograficznego kraju, oceniono podobieństwo dwu gatunków fasoli, a następnie przeprowadzono analizę struktury genetycznej odmian i populacji miejscowych, sklasyfikowano odmiany na podstawie trzech typów cech, oceniono duplikaty obiektów o tej samej nazwie oraz wytypowano obiekty do kolekcji podstawowej z grupy odmian i populacji miejscowych.

Badania wykazały, że dokonano właściwego wyboru metody opisu i różnicowania materiału kolekcyjnego fasoli. Zastosowana metoda AFLP wykazała wysoki poziom polimorfizmu przy wyjątkowo niskim poziomie błędów doświadczalnych. Dzięki temu, że wybrany materiał badawczy tj. odmiany i populacje miejscowe były silnie zróżnicowane można było dokonać oceny wzajemnych zależności, grupowania i ich struktury genetycznej oraz sprawdzić poprawność klasyfikacji gatunkowej. Możliwość zróżnicowania obiektów kolekcyjnych, należących do jednego z dwu badanych gatunków fasoli – zwyczajnej lub wielokwiatowej jest bardzo ważna wobec możliwych błędów w klasyfikacji, popełnionych przez dawców podczas ekspedycji terenowych. W pracy Doktoranta pozwoliło to wyłączyć zbędne obiekty z dalszych analiz.

W efekcie pogrupowania obiektów zgodnie z fizycznogeograficznymi regionami kraju okazało się, że zmienność wewnątrz regionów jest większa niż między nimi. Stąd słuszne spostrzeżenie Doktoranta o ograniczonej puli genów badanych obiektów i braku barier ograniczających ich wymianę, pomimo różnic pomiędzy regionami pod względem ukształtowania terenu, warunków glebowych i klimatycznych.

Porównanie odmian uprawnych fasoli z populacjami miejscowymi poddanych analizie AFLP wykazało, że oba typy materiałów tworzą oddzielne grupy, pomimo szerokiej zmienności w obrębie każdej z nich i zastosowania różnych metod grupowania. Szczególnie szerokie było spektrum odmian, które wchodziły do uprawy w okresie ostatnich 50 lat i reprezentowały różne cechy użytkowe i hodowlane, a niektóre z nich powstały z populacji miejscowych. Doktorant słusznie zauważył, że może to być efektem częstszego korzystania w hodowli z puli odmianowej, aniżeli pozornie bardziej prymitywnej, zawartej w kolekcji populacji. Interesującym uzupełnieniem w grupowaniu obiektów okazało się uwzględnianie cech morfologicznych. Doktorant wykorzystując analizę skupień wykazał, że może to być jedynie metoda uzupełniająca cechy genetyczno-molekularne. Cechy morfologiczne, pomimo przestrzegania zasad OWT w hodowli mogą podlegać wpływowi środowiska, szczególnie w długotrwałym procesie gromadzenia i przechowywania zasobów genowych, zatem nie mogą być jedynymi kryteriami w rozstrzygnięciu identyczności/odrębności duplikatów kolekcyjnych (o tej samej nazwie przy różnym pochodzeniu).

Interesująca jest przeprowadzona przez Doktoranta interpretacja wyników analizy struktury genetycznej odmian i populacji miejscowych fasoli przy zastosowaniu trzech statystyk. Okazało się, że badane obiekty utworzyły dwie główne grupy, obejmujące tak odmiany jak i populacje z sugestią zależności grupowania od podziału fizycznogeograficznego kraju. Tu wnioskowanie nie mogło być ostateczne wobec braku informacji o pochodzeniu materiałów z pierwotnych centrów różnicowania, które dotarły do Polski. Z danych

literaturowych wiadomo jedynie, że typ andyjski fasoli dominuje na półwyspie iberyjskim, we Włoszech oraz Centralnej i Północnej Europie, a w Europie Wschodniej fasole pochodzenia mezoamerykańskiego. Tu brakuje dyskusji z wynikami badań Przybylskiej (np. w Gen. Pol 34(1) 1993). Jednak uzyskane przez Doktoranta wyniki uprawdopodobniły hipotezę, że występujące na obszarze Polski fasole pochodzą z różnych centrów różnicowania gatunku. Wyniki uzyskane z zastosowaniem różnych metod analizy, potwierdziły także inną hipotezę, że Polska, a szczególnie jej wschodnie makroregiony mogą stanowić wtórne centrum różnicowania gatunku, jako efekt presji środowiska, sposobów uprawy, a być może i preferencji konsumentów.

Ostatni cel przeprowadzonych badań dotyczył możliwości wytypowania kolekcji podstawowej fasoli. Jest to ważne zagadnienie wobec trudności w utrzymywaniu, zarządzaniu i wykorzystaniu kolekcji o dużej liczbie obiektów. W takich przypadkach ważne jest wytypowanie możliwie niedużej grupy obiektów ($\pm 10\%$ całkowitej liczby,) reprezentującej możliwie całkowitą zmienność gatunku. Przeprowadzona programem PowerCore analiza oparta na bazie markerów AFLP wytypowała 61 populacji miejscowych (około 30% wszystkich przebadanych) pokrywających reprezentowaną zmienność. W większości były to populacje ze wschodniej i południowowschodniej Polski oraz ze Wzniesienia Południowomazowieckiego. Doktorant zasugerował, że to szerokie spektrum zmienności jest efektem zachowanego, tradycyjnego sposobu uprawy na wspomnianych obszarach. Natomiast kolekcja odmian uprawnych musi obejmować 52 obiekty (70% przebadanych), aby odpowiednio reprezentować zmienność genetyczną. Dyskusję wyników kończy, także słuszne spostrzeżenie, zgodne z wieloma literaturowymi, o dużej różnorodności genetycznej populacji miejscowych fasoli związanej z odpornością na patotegę i niekorzystne warunki atmosferyczne, a więc szczególnie przydatnej w hodowli.

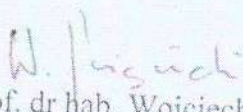
Ciekawie przeprowadzona dyskusja, konfrontująca wyniki własne Doktoranta z zebraną bibliografią umożliwiła wartościowe wnioskowanie. Postawione wnioski są właściwie sformułowane, a co najważniejsze nawiązują do przyjętych hipotez i demonstrują realizację wytyczonych celów. Wskazują, jak bardzo metoda AFLP może być przydatna w analizie materiałów kolekcyjnych. Przeprowadzone przez Doktoranta badania wykazały możliwość odróżnienia gatunków fasoli, wskazały na występowanie w Polsce dwu pul genowych powiązanych z regionem występowania, mogących odzwierciedlać centra pochodzenia gatunku lub wtórne centra różnicowania, a odrębna pula genetyczna populacji miejscowych, szersza niż odmian hodowlanych może być przydatna dla hodowli. Metoda AFLP okazała się także przydatna w typowaniu kolekcji podstawowej, którą utworzyło 114 obiektów (40% badanych), a więc zaledwie 3,8% ogólnych zbiorów krajowych fasoli.

Oceniana dysertacja może stanowić modelowy przykład, jak wiele wartościowych wyników mogą dostarczyć badania, gdy właściwie postawimy hipotezę i określimy cele badań, a do ich realizacji dobierzemy odpowiedni materiał i metody.

Reasumując, rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemów naukowych, a przeprowadzone badania dostarczają nie tylko wielu wartościowych wyników o znaczeniu naukowym, ale także przydatnych w opracowywaniu bioróżnorodności roślin uprawnych. Równie wysoko oceniam opracowanie dysertacji – konsekwencję w przedstawianiu kolejnych zagadnień, poprawność językową i syntetyczny styl.

W mojej ocenie rozprawa doktorska mgr Jarosława Nowosielskiego spełnia kryteria określone w art.13 ustawy z 14 marca 2003 r. *o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki* (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789), zgodnie z art. 179 ustawy z 3 lipca 2018 r. – *Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669).

Zatem stawiam wniosek o dopuszczenie Pana mgr Jarosława Nowosielskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


prof. dr hab. Wojciech Święcicki
czł. rzec. PAN

Poznań, dn. 1 września 2020 roku