

Dr hab. Anna Tratwal prof. nadzw. IOR PIB

Poznań, 02.09.2020

Instytut Ochrony Roślin Państwowego Instytut Badawczy

Zakład Monitorowania i Sygnalizacji Agrofagów

Ul. Władysława Węgorka 20

60 – 318 Poznań

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Grzegorza Czajowskiego

### **”Wirulencja i polimorfizm DNA populacji *Puccinia triticina* (Erikss.) występującej na pszenżycie (*xTriticosecale* Wittm.) w Polsce”**

Podstawą formalną do wykonania recenzji jest Uchwała nr 1/XIX/108 Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie oraz pismo RN-001-75-2020 z dnia 02.07.2020.

Od dnia 1 stycznia 2014 r. na mocy Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/128/WE z dnia 21 października 2009 r. ustanawiającej ramy wspólnotowego działania na rzecz zrównoważonego stosowania pestycydów, na terenie Rzeczypospolitej Polskiej, obowiązuje przestrzeganie zasad integrowanej ochrony roślin przez wszystkich profesjonalnych użytkowników. Zasady i wytyczne integrowanej ochrony roślin przekazane w Załączniku III „Ogólne zasady integrowanej ochrony roślin”, kładą bardzo duży nacisk na wykorzystanie wszystkich możliwych i dostępnych metod mających na celu ograniczenie do nieszkodliwego poziomu rozwoju populacji organizmów szkodliwych. Obowiązujące na terenie naszego kraju zasady i metody integrowanej ochrony są działaniami interdyscyplinarnymi, wymagającymi współpracy różnych specjalistów i obejmującymi swoim zakresem wiele dziedzin, takich jak: entomologia, fitopatologia, hodowla, uprawa roli i roślin, gleboznawstwo i inne. Zgodnie z wytycznymi w/w załącznika zapobieganie występowaniu organizmów szkodliwych powinno być osiągnięte m.in. przez stosowanie płodozmianu, stosowanie właściwej agrotechniki oraz co bardzo ważne, stosowanie odmian odpornych lub tolerancyjnych w produkcji rolnej.

Nadrzędnym celem ochrony roślin uprawnych przed chorobami i występowaniem szkodników jest utrzymanie agrofagów na takim poziomie, aby nie zakłócały one prawidłowego rozwoju roślin. Uzyskanie takich efektów jest możliwe przez wybieranie metod ochrony o jak najmniejszej szkodliwości dla środowiska. Zwykle jest to połączenie kilku metod, które pojedynczo nie dałyby zadowalającego efektu, natomiast ich integracja pozwala na zminimalizowanie kosztów przy jednocześnie dużej pewności uzyskania pozytywnego efektu końcowego.

Praktyczne stosowanie integrowanej ochrony roślin wiąże się z wykorzystaniem, na ile to możliwe, wszelkich alternatywnych dla ochrony chemicznej metod zwalczania agrofagów. Zasadą jest, aby stosować różne metody, najbardziej efektywne i najmniej szkodliwe dla środowiska naturalnego w danym okresie rozwoju rośliny uprawnej. Podstawą systemu integrowanej ochrony roślin jest wykorzystanie metod hodowlanych, agrotechnicznych, oraz stosowanie niektórych chemicznych środków ochrony roślin, dobranych pod kątem selektywności oraz bezpieczeństwa dla środowiska. W ramach integrowanej ochrony roślin przewiduje się, że większego znaczenia nabiorą badania nad chorobami roślin oraz hodowla odpornościowa i pełniejsze wykorzystanie odmian odpornych na choroby w warunkach produkcyjnych.

Odmiany odporne na choroby spełniają ważną funkcję w uprawie i ochronie roślin uprawnych. Przewiduje się, że w najbliższych latach znacznie wzrośnie ich znaczenie, nie tylko ze względu na integrowaną ochronę roślin, ale także zapotrzebowania różnych systemów gospodarowania w rolnictwie. Pełniejsze wykorzystanie odmian odpornych na stropy biotyczne i abiotyczne w praktyce produkcyjnej, w tym integrowanej ochronie roślin, wymagać będzie większej niż dotąd współpracy pomiędzy hodowcami roślin, instytucjami badawczymi i jednostkami zajmującymi się doświadczalnictwem odmianowym i rolniczym. Dzięki badaniom i doświadczeniom odmianowym możliwa jest selekcja odmian przydatnych do rolnictwa konwencjonalnego, a w dalszym etapie do integrowanej ochrony roślin oraz odmian dla rolnictwa zrównoważonego, a więc odmian pozwalających na zmniejszanie nakładów (nawozy, pestycydy, energia, woda i inne) i wykazujących się odpornością na choroby i inne stropy biotyczne i abiotyczne (zimotrwałość, susze, fluktuacje pogodowe).

Produkcja zbóż jest jednym z głównych kierunków produkcji rolniczej w Polsce. Zajmują one ważne miejsce w gospodarce żywnościowej kraju. W strukturze zasiewów w ostatnich latach zboża utrzymują się na poziomie około 75%. Popularność uprawy zbóż wynika głównie z warunków klimatyczno-glebowych, ze stosunkowo prostej technologii produkcji, względnie niskiej pracochłonności, łatwości przechowywania, transportu i sprzedaży. Struktura gatunkowa zbóż jest determinowana warunkami klimatycznymi i glebowymi. W krajowej produkcji zbóż dominuje pszenica. Coraz większego znaczenia nabiera również uprawa pszenżyta, które staje się ważnym produktem wykorzystywanym głównie w sektorze paszowym.

Wobec powyższego, czyli wzrastającej tendencji w uprawie pszenżyta, jak i wymogów stawianych rolnictwu w ramach integrowanej ochrony, bardzo trafnym, w mojej ocenie, jest wybór zakresu badawczego podjętego przez mgr inż. Grzegorz Czajowskiego.

Rdza brunatna, obok mączniaka prawdziwego, jest jedną z ważniejszych chorób grzybowych pszenżyta, które było dotąd uważane za stosunkowo odporne na rdzę brunatną. Jak słusznie podkreśla doktorant, w ostatnich latach w uprawach pszenżyta notuje się coraz większe straty z powodu porażenia przez *Puccinia triticina*.

W tym miejscu, chciałabym zasugerować, aby w trakcie przygotowywania publikacji naukowych związanych z doktoratem uwzględnić kilka zdań o znaczeniu pszenżyta (np. we wstępie), jego sposobów wykorzystania, przede wszystkim zmieniającego się areału jego uprawy w Polsce w ostatnich latach (np. dane GUS).

Ponadto, w mojej ocenie mówiąc o wzrastającym zagrożeniu ze strony rdzy brunatnej należałoby to potwierdzić danymi literaturowymi czy danymi PIORIN.

Rozprawa doktorska obejmuje 93 strony maszynopisu, podzielona została na logicznie ułożone rozdziały, czyli: wstęp i cel pracy, przegląd literatury, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski i bibliografia.

Bardzo przydatne jest umieszczenie na początku pracy streszczenia, które krótko i przejrzysto przedstawia najważniejsze aspekty pracy doktorskiej. Jako drobna uwaga, czysto stylistyczna, – w streszczeniu jest: „W oparciu o wyniki analizy molekularnej, przy pomocy analizy głównych współrzędnych, izolaty podzielono na trzy grupy „pszeniczną SSR”, „pszenżytnią SSR” i „żytnią SSR”. Później w tekście używa się określeń „w grupie I SSR...”, „w grupie II SSR”. Rozumiem, że grupa I SSR to grupa pszeniczna SSR, II SSR to pszenżytnia SSR – w mojej opinii należałoby to jednoznacznie ujednotoczyć tak aby uniknąć nieporozumień – czyli np. napisać: „pszeniczna SSR (I SSR)”, itd.

W przedstawionej do mojej oceny rozprawie doktorskiej we *Wstępie* doktorant krótko i przejrzysto opisuje zagadnienie związane z odpornością pszenżyta na rdzę brunatną na pszenżycie. Jak już wspomniałam wcześniej, uprawa odmian wszystkich roślin uprawnych posiadających efektywne geny odporności jest jednym z najbardziej przyjaznych środowisku sposobów ograniczenia występowania wielu chorób. Niezwykle istotnym elementem strategii hodowli opornościowej jest znajomość zmian zachodzących w populacjach patogenów przy wykorzystaniu różnych metod, jak: losowe amplifikacje polimorficznego DNA, polimorfizm długości powielonych fragmentów DNA, czy metody z użyciem markerów mikrosatelitarnych. Ponadto, jak słusznie podkreśla doktorant wiele prac i doniesień dotyczy badań przeprowadzonych na bazie izolatów uzyskanych z odmian pszenicy zwyczajnej i durum, a stosunkowo niewiele jest prac dotyczących różnic pomiędzy populacjami *P. triticina* występującymi na pszenicy i pszenżycie. Wobec powyższego słusznym w mojej ocenie,

zwłaszcza dla programów hodowlanych, a przede wszystkim praktyki rolniczej jest wybór zakresu badań podjętych przez mgr inż. Grzegorza Czajowskiego.

We wstępie przedstawiono jasno sformułowane i logiczne cele pracy, tj.

- analiza przydatności markerów mikrosatelitarnych do wykrywania zmienności dla *P. triticina* i *P. recondita* f. sp. *secalis*,
- analiza zmienności w populacji *P. triticina* występującej na pszenżycie w Polsce.

W kolejnym rozdziale - *Przegląd literatury*, na 28 stronach maszynopisu, ośmiu rycinach i w trzech tabelach przedstawiono w sposób przejrzysty, czytelny i logicznie ułożony najważniejsze zagadnienia związane z takimi zagadnieniami jak:

- systematyka i historia nazewnictwa gatunkowego *Puccinia triticina*,
- biologia grzyba – z podziałem na opis roślin żywicielskie, cykl rozwojowy, epidemiologię oraz wirulencję i koszty patogeniczności,
- odporność roślin na rdzę brunatną – z podziałem na zagadnienia związane z koncepcją i genami odporności,
- badania zmienności w populacji *Puccinia triticina*.

Rozdział pracy związany z przeglądem literatury jest bardzo bogaty, szczegółowo i dobrze opisany, bogata lista cytowań, głównie prac z ostatnich kilku lat, z wielu krajów świadczy o bardzo dobrym rozeznaniu doktoranta w tematyce związanej z przedstawioną rozprawą doktorską. Zagadnienia zawarte w tym rozdziale zostały wyczerpująco omówione i stanowią dobre wprowadzenie do badań nad wirulencją i polimorfizmem DNA populacji *Puccinia triticina*, występującej na pszenżycie w Polsce.

Drobne uwagi:

W części „Biologia grzyba – rośliny żywicielskie” str. 18, oraz „Biologia grzyba – epidemiologia”, str. 25, jest zacytowana praca „Bolton i in., 2009”, której nie ma w spisie bibliografii (być może powinno być „Bolton i in., 2008”).

Brakuje także w spisie literatury pozycji „Kamoun, 2006” – str. 28 – „Biologia grzyba - wirulencja i koszty patogeniczności”.

W tabeli 1 - Geny odporności zidentyfikowane w *Triticum aestivum* i gatunkach pokrewnych, jest zacytowana pozycja „Kuraparthy i in., 2007” (pozycja „gatunek *Aegilops geniculata*, gen Lr57”) – brakuje uściślenia Kuraparthy i in., 2007 a czy 2007 b – tak jak jest w spisie literatury.

Podobnie w tabeli 2 (pozycja „Chromosom 2BL” i „chromosom 5DS”).

W tabeli 3 jest zacytowana pozycja Kolmer i Liu, 2007, której nie ma w spisie literatury.

Na stronie 41 jest zacytowana: Hanzalová i in., 2013; Gulyaeva i in., 2016, których nie ma w spisie literatury.

Chciałabym zauważyć, że ryciny zamieszczone z tym rozdziale podnoszą jakość tej części pracy, mogą w przyszłości stanowić cenne źródło przyszłej publikacji o charakterze przeglądowym, których brakuje w dostępnej literaturze, zwłaszcza pod kątem szkoleniowym przyszłej kadry fitopatologów, epidemiologów i hodowców roślin uprawnych.

Kolejny rozdział *Materiał i metody*, na 11 stronach maszynopisu, w trzech rycinach i trzech tabelach, dostarcza podstawowych informacji odnośnie szczegółów badań. W tej części pracy doktorant szczegółowo opisuje prace związane z analizą przydatności markerów mikrosatelitarnych do wykrywania zmienności genetycznej dla *Puccinia triticina* i *Puccinia recondita* f. sp. *secalis* z podziałem na takie części jak:

- przygotowanie i identyfikacja tożsamości gatunkowej izolatów, na które składało się zestaw 11 izolatów *P. triticina* z pszenicy, 13 izolatów z pszenżyta i 15 izolatów *P. recondita* f. sp. *secalis* z żyta.
- analiza molekularna, która zostało dokonana przy użyciu zestawu 34 par starterów mikrosatelitarnych SSR,
- analiza statystyczna.

W rozdziale tym opisano także metodykę badań związaną z analizą zmienności w populacji *Puccinia triticina* występującej na pszenicy. W tym celu, w kolejnym etapie badań, przygotowano 242 jednozarodnikowych izolatów *P. triticina*, pozyskanych z próbek porażonych liści zebranych w latach 2012-2015, w czterech lokalizacjach: Krakowie, Grodkowicach, Krzczowicach i Małyszynie.

W tym miejscu drobna uwaga – warto uściślić dane lokalizacyjne – pola jednostek hodowlanych?

Na stronie 55 jest zacytowana pozycja Peakall i in., 1995, Slatkin, 1995, których brakuje w spisie literatury.

Podstawową częścią pracy przedstawionej do mojej oceny, to rozdział *Wyniki*, który został przedstawiony na 10 stronach maszynopisu, sześciu tabelach i czterech rycinach.

Przedstawiona w tej części dokumentacja dokładnie opisuje uzyskane wyniki doświadczeń przeprowadzonych w ramach prac badawczych realizowanych przez mgr in. Grzegorza Czajowskiego.

Doktorant kolejno opisuje uzyskane wyniki, wzbogacone o zestawienia tabelaryczne, jak i ryciny, dotyczące analizy przydatności markerów mikrosatelitarnych do wykrywania zmienności genetycznej dla *Puccinia triticina* i *Puccinia recondita* f. sp. *secalis* oraz analizy zmienności w populacji *Puccinia triticina* występującej na pszenicy.

W rozdziale *Wyniki*, autor właściwie dokonał interpretacji uzyskanych wyników badań, sprawnie zmierzył się z bogatą listą wyników uzyskanych z przeprowadzonych analiz. W większości przypadków ustosunkował się do zależności wynikających z poszczególnych czynników badań wykorzystując do tego celu analizy statystyczne. Potwierdził tym samym, celowość realizacji podjętego tematu.

Na podkreślenie zasługuje szerokie i wnikliwe opracowanie rozdziału *Dyskusja* liczącego 11 stron maszynopisu, w którym autor umiejętnie konfrontuje wyniki własne z rezultatami badań innych autorów zawartych w przytoczonych pozycjach bibliografii. Z rozdziału tego wynika, że mgr inż. Grzegorz Czajowski posiada szerokie rozeznanie w literaturze z tej dziedziny. W mojej ocenie dyskusja przeprowadzona jest prawidłowo i wyczerpująco.

Drobne uwagi:

Na stronie 71 jest zacytowana pozycja Kolmer i in., 2009, na str. 76 Hanzalová i in., 2013, których brakuje w spisie literatury.

Przedstawione w rozprawie doktorskiej wyniki badań autor podsumowuje w formie 5 poprawnie sformułowanych logicznych wniosków.

Rozdział *Bibliografia* obejmuje 255 pozycji, w zdecydowanej większości, co należy podkreślić, są to pozycje anglojęzyczne, kilku pozycji zamieszczonych w tym rozdziale nie odnalazłam w tekście pracy:

- Kolmer J. A. 1992. Enhanced leaf rust resistance in wheat conditioned by resistance gene pairs with Lr13. *Euphytica* 61: 123-130.

- Park R. F., McIntosh R. A. 1994. Adult plant resistances to *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in wheat. *New Zeal J Crop Hort* 22: 151-158.

- Singh R., Mujeeb-Kazi A., Huerta-Espino J. 1998. Lr46: a gene conferring slow-rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88: 890-894.

- Vanzetti L. S., Campose P., Demichelis M., Lombardo L. A., Aurelia P. R., Vanschetto L. M., Bainotti C. T., Helguera M. 2011 Identification of leaf rust resistance genes in selected Argentinean bread wheat cultivars by gene postulation and molecular markers. *Electron J Biotechnol* 14 (3): 1–17.

Na podstawie szczegółowej oceny treści rozprawy pod względem merytorycznym, stylistycznym, interpretacji wyników, sposobu przeprowadzenia dyskusji, a także formułowania wniosków stwierdzam, że praca jest poprawna, czytelna, łatwa w odbiorze i zrozumiała, interpretacja wyników jest logiczna, a wnioski są konkretne.

Tematyka i zakres badań w pełni kwalifikują pracę doktorską do ubiegania się autora o stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Po gruntownej ocenie, wskazaniu drobnych uwag, których nie sposób uniknąć w tak obszernej pracy, wystawiam pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej autorstwa mgr inż. Grzegorza Czajowskiego „Wirulencja i polimorfizm DNA populacji *Puccinia triticina* (Eriks.) występującej na pszenicy (*Triticosecale* Wittm.) w Polsce”, wykonanej w Pracowni Genetyki Stosowanej, Zakład Genetyki i Hodowli Roślin, pod opieką dr hab. Pawła Czembora, prof. Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia stawiane pracom doktorskim wymagania 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). i wnoszę do Rady Naukowej IHAR --PIB o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Anna Tratalwal*