



Prof. dr hab. Magdalena Arasimowicz-Jelonek
Zakład Ekofizjologii Roślin
Wydział Biologii
Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6,
61-614 Poznań

Poznań, 23.02.2021

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marty Janiszewskiej
pt.: „Zróżnicowanie genetyczne i fenotypowe izolatów *Phytophthora infestans* (Mont.) de
Bary z ziemniaka *Solanum tuberosum* L. ”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska magister Marty Janiszewskiej 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. Na pracę składa się cykl trzech powiązanych tematycznie oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w latach 2016-2020, w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR). W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

1. Brylińska M., Sobkowiak S., Stefańczyk E., Śliwka J. (2016) Potato cultivation system affects population structure of *Phytophthora infestans*. *Fungal Ecology* 20: 132-143;
2. Brylińska M., Sobkowiak S., Stefańczyk E., Śliwka J. (2018) Evaluation of PCR markers for *Phytophthora infestans* mating type determination. *European Journal of Plant Pathology* 152: 33-44;
3. Janiszewska M., Sobkowiak S., Stefańczyk E., Śliwka J. (2020) Population structure of *Phytophthora infestans* from a single location in Poland over a long period



of time in context of weather conditions. *Microbial Ecology*
<https://doi.org/10.1007/s00248-020-01630-6>.

Wszystkie prace są wieloautorskie, mgr Janiszewska jest w nich pierwszym autorem (zgodnie z załączonym oświadczeniem, dnia 05.10.2019 nastąpiła zmiana nazwiska z Brylińska na Janiszewska), a w pracy ostatniej (*Microbial Ecology* 2020) dodatkowo autorem korespondencyjnym. Jej rola w przygotowaniu wskazanych prac była wiodąca, gdyż udział wynosił od 55% do 60%. Z załączonych oświadczeń wynika, że Doktorantka wykonała analizy molekularne umożliwiające genotypową charakterystykę izolatów *P. infestans*, analizy bioinformatyczne, a także brała udział w interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptów. Złożone oświadczenia współautorów poszczególnych prac, potwierdzają dominujący wkład Doktorantki w tworzenie i realizację badań będących podstawą rozprawy doktorskiej. Ponadto szczegółowy opis wkładu współautorów zawarty w trzeciej pracy opublikowanej w czasopiśmie *Microbial Ecology* (2020) wskazuje, że w tej części badań Autorka uczestniczyła również w tworzeniu koncepcji i fenotypowej charakterystyce izolatów *P. infestans*. Łączna wartość wymienionych publikacji według aktualnych kryteriów MNiSW wynosi 300 punktów, a wartość współczynnika IF według listy JCR (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi 8,25. Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi oraz Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach działalności statutowej.

Przedstawiona do recenzji praca składa się z następujących elementów: wykazu publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej; streszczenia w języku polskim i angielskim; komentarza w języku polskim, obejmującego *Przegląd literatury*, *Cel badań*, *Omówienie wyników*, *Podsumowanie uzyskanych wyników*, *Obserwacje i wnioski* oraz *Literaturę*; zbioru trzech artykułów stanowiących przedmiot dysertacji oraz oświadczeń współautorów poszczególnych publikacji wchodzących w skład rozprawy.

Wysoko pod względem merytorycznym oceniam napisane przez mgr Martę Janiszewską opublikowane oryginalne prace twórcze i załączony komentarz, który został



opracowany syntetycznie i przejrzysto. W moim odczuciu część komentarza obejmująca *Przegląd literatury* mogłaby jednak zostać wzbogacona o krótką charakterystykę oddziaływań molekularnych interakcji ziemniak-*P. infestans*, co dodatkowo podkreśliłoby wagę podjętych przez Doktorantkę badań nad zróżnicowaniem genetycznym i fenotypowym patogenu. Do komentarza warto było też dodać podrozdział metodyczny, który by pozwolił na poznanie miejsc zbioru materiału badawczego i metod jakimi posłużyła się Doktorantka w trakcie realizacji swojej pracy badawczej. W tym miejscu należy jednak zaznaczyć, że wszystkie metody zostały zawarte w załączonych publikacjach. Lista opisanych technik badawczych, które były wykorzystane w pracy jest właściwa i wraz z przedstawionymi wynikami i ich dyskusją, nie pozostawia wątpliwości, że mgr Janiszewska zarówno opanowała metodykę badań, jak i wykazała się zmysłem analitycznym potrzebnym do opanowania wyjątkowo dużej liczby danych empirycznych. Sądzę, że ostatnie podrozdziały komentarza, tj. *Podsumowanie uzyskanych wyników* oraz *Obserwacje i wnioski*, można było z powodzeniem połączyć z uwagi na powtarzające się w nich informacje. Warto podkreślić, że komentarz wstępny do dysertacji poparty został odpowiednio dobranymi cytowaniami, co świadczy o bardzo dobrej znajomości literatury przedmiotu.

Nadrzędnym celem przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej było określenie zróżnicowania fenotypowego i genetycznego izolatów *Phytophthora infestans*, wraz z poznaniem wpływu czynników kształtujących polską strukturę populacji tego patogenicznego lęgniowca. Realizacji powyższego celu nadrzędnego służyły trzy cele szczegółowe, którym przyporządkowano trzy hipotezy badawcze. Określone cele jasno definiują zakres sukcesywnie analizowanych zagadnień o charakterze wieloaspektowym. Zgodnie z przyjętymi przez Autorkę hipotezami (i) system uprawy ziemniaka oraz intensyfikacja ochrony chemicznej wpływają na strukturę populacji *P. infestans* w Polsce; (ii) markery PCR mogą służyć do identyfikacji typu kojarzeniowego *P. infestans*; (iii) warunki pogodowe, takie jak mroźne zimy i upalne lata, powodują wzrost różnorodności genetycznej w populacji *P. infestans*, przy jednoczesnym ograniczeniu udziału linii klonalnych.



Patogeniczny organizm grzybopodobny jakim jest *P. infestans* cechuje się wysokim poziomem zmienności genetycznej, a charakterystyka aktualnej populacji jest nie tylko elementem warunkującym właściwą hodowlę odpornościową, ale także kluczowa dla opracowania i wdrażania efektywnych systemów chemicznej ochrony upraw ziemniaka. Co więcej, monitorowanie zmian zachodzących w populacjach tak ważnych patogenów roślin uprawnych, jak *P. infestans* umożliwia rozpoznanie dominujących patotypów, a tym samym dostosowanie materiału uprawnego o odpowiednim poziomie odporności. Reasumując, zarówno model, jak i cele przyświecające badaniom są istotne z teoretycznego i aplikacyjnego punktu widzenia, zatem tematykę badawczą podjętą przez mgr Janiszewską uważam za wyjątkowo ważną i aktualną. Ponadto należy dodać, że postawiony przez Doktorantkę cel nadrzędny pracy wpisuje się w główny nurt badawczy zespołu naukowego Pani prof. dr hab. Jadwigi Śliwki i stanowi kontynuację prowadzonych z sukcesem badań m.in. nad zróżnicowaniem *P. infestans* w Polsce.

Trzy prace oryginalne wchodzące w skład rozprawy uzyskały już pozytywną ocenę recenzentów, a także redaktorów uznanych czasopism z zakresu fitopatologii. Z tego względu nie widzę potrzeby ponownej recenzji merytorycznej już opublikowanych artykułów. Z powinności recenzenta dysertacji przytoczę jedynie najważniejsze osiągnięcia uzyskane z przeprowadzonych badań.

W pierwszej pracy cyklu (opublikowana w 2016) Doktorantka wykazała, że dominujący system uprawy ziemniaka i stosowana ochrona wpływa na strukturę populacji *P. infestans* w Polsce i tym samym potwierdziła postawioną na wstępie hipotezę badawczą. Przeprowadzone badania obejmowały bogatą próbę obejmującą 365 izolatów pozyskiwanych z pojedynczej plamy chorobowej na listku ziemniaka, które zebrano z 3 lokalizacji w Polsce o zróżnicowanym systemie uprawy i ochrony ziemniaka. Wykonano szereg analiz charakteryzujących populacje pod względem genetycznym i fenotypowym. W oparciu o analizy molekularne z wykorzystaniem markerów SSR zidentyfikowano aż 299 unikatowych genotypów, tworzących 4 klastery. W regionie o najwyższym poziomie intensywności



uprawy ziemniaka zaobserwowano wzrost występowania izolatów o typie kojarzeniowym A1, odpornych i średnio odpornych na metalaksyl oraz szerzenie się linii klonalnych.

Celem kolejnej pracy (opublikowana w 2018) było porównanie efektywności trzech markerów PCR, tj. W16, S1 i PHYB w identyfikacji typu kojarzeniowego *P. infestans* względem klasycznej metody krzyżowania z wzorcami na szalkach Petriego. Weryfikacja przeprowadzona na grupie 146 polskich i 26 zagranicznych izolatów patogenu wskazała jako najbardziej efektywny marker S1 (96%), następnie W16 (95%) i PHYB (86%). Jednocześnie udokumentowano, że marker W16 jest nieprzydatny w identyfikacji typu kojarzeniowego izolatów o genotypie US-1 (A1), z uwagi na powstanie produktu tego markera charakterystycznego dla izolatów o typie A2, co w konsekwencji tylko częściowo potwierdziło drugą, postawioną na wstępie, hipotezę badawczą.

Ostatnia z prac (opublikowana w 2020) koncentruje się na długoterminowej analizie struktury pojedynczej populacji *P. infestans* zlokalizowanej w obrębie niechronionego przeciwko zarazie ziemniaka pola eksperymentalnego w Boguchwale. W tym przypadku, układ badawczy obejmował 237 izolatów, należących do 89 różnych genotypów. Najliczniej reprezentowany był genotyp 34_A1, występujący aż w 14-nastu z 15-nastu analizowanych sezonów wegetacyjnych, przy czym wśród izolatów tego genotypu stwierdzono zróżnicowanie pod względem wirulencji i odporności na metalaksyl. Analiza warunków meteorologicznych wskazała, że mroźne, długie zimy i gorące, suche lata nie miały bezpośredniego wpływu na strukturę genetyczną analizowanej populacji patogenu, nie potwierdzając tym samym trzeciej hipotezy badawczej.

Reasumując uzyskane wyniki, należy ponownie zaznaczyć, że wyniki przeprowadzonych badań, poza wartością poznawczą w aspekcie biologii i patobiologii lęgniowców, mają bardzo duże znaczenie praktyczne, Doktorantka podjęła się bowiem zakrojonych na dużą skalę badań nad charakterystyką polskich populacji *P. infestans*. Przyjęta koncepcja, w tym zastosowane metody badań i analizy danych pozwoliły zrealizować zarówno postawiony cel nadrzędny, jaki cele szczegółowe rozprawy. Poza powyżej



opisanymi osiągnięciami rozprawy, do najważniejszych zaliczam również wykazanie, że oospory nie są jedynym sposobem na przezimowanie *P. infestans*, gdyż zimować mogą również sporangia i/lub strzępki, co udokumentowano w ostatniej publikacji. Na zakończenie mam drobne uwagi natury redakcyjnej odnoszące się do omówienia wyników badań w dysertacji. Przykładowo Autorka posługuje się terminem grzybnia (*mycelium*), podczas gdy w odniesieniu do lęgniowców bardziej trafnym jest określenie strzępki (*hyphae*). 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:

- czym kierowała się Autorka wybierając liczbę izolatów do testów wirulencji (345 z 365) i odporności na metalaksyl (360 z 365) w publikacji nr 1.?
- proszę o szerszy komentarz do konkluzji zawartej w publikacji nr. 1, że obecność trzech alleli w wielu loci mogą tworzyć barierę dla rozmnażania płciowego *P. infestans*;
- jak wytłumaczyć rzadkość występowania czynnika wirulencji 9 w populacjach *P. infestans* z Polski i krajów Europy północnej?
- w jaki sposób aplikowano metalaksyl do kultury patogenu w testach *in vitro*?
- dlaczego w komentarzu używane jest naprzemienne sformułowanie „średnio odporny/średnio wrażliwy” na metalaksyl? Czy w opinii Autorki te terminy są tożsame, czy zastosowano jakąś skalę różnicującą?

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona do oceny dysertacja dostarcza cennych informacji i wnosi nową wiedzę na temat *P. infestans*, sprawcy jednej z najgroźniejszych chorób ziemniaka i innych roślin z rodziny psiankowatych, a jednocześnie gatunku modelowego wśród lęgniowców. Pani mgr Marta Janiszewska wykazała bardzo dobre umiejętności w zakresie posługiwania się różnorodnymi metodami badawczymi w zakresie badań populacyjnych, a sposób opracowania rozprawy i duża swoboda poruszania się w omawianym temacie świadczą o dojrzałości naukowej Doktorantki.



Wniosek końcowy

W świetle przedstawionej, pozytywnej oceny pracy doktorskiej mgr Marty Janiszewskiej wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


prof. dr hab. Magdalena Arasimowicz-Jelonek