

Lublin, 24.05.2022

Prof. dr hab. Krzysztof Kowalczyk
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Akademicka 15
20-950 Lublin

R e c e n z j a

pracy doktorskiej pt. „Identyfikacja genów odporności na rdzę karłową (*Puccinia hordei* Otth.) w odmianach miejscowych jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.” wykonanej przez mgr inż. Piotra Słowackiego w Zakładzie Biologii Stosowanej, Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie pod kierunkiem dr hab. Pawła Cz. Czembora prof. instytutu

Jęczmień zwyczajny (*Hordeum vulgare* L.) jest jednym z najważniejszych zbóż uprawianych na świecie. Duże znaczenie ziarna jęczmienia zwyczajnego w żywieniu ludzi, ale przede wszystkim jako paszy dla zwierząt oraz surowca dla przemysłu sprawia, że gatunek tego zboża jest obiektem intensywnych badań naukowców z różnych dziedzin i dyscyplin. Prowadzone prace badawcze, zarówno o znaczeniu podstawowym, jak i aplikacyjnym mają na celu poprawę wartości gospodarczej tego gatunku, uwarunkowanej wielkością plonu ziarna oraz odmiennymi wymaganiami jakościowymi zależnymi od jego wykorzystania. Duże znaczenie mają również badania dotyczące ograniczenia strat ziarna powodowanych przez czynniki stresowe.

Odporność na choroby jest jednym z ważniejszych czynników wpływających na wielkość uzyskiwanych plonów jęczmienia zwyczajnego, warunkujących utrzymanie wysokiej produktywności tego zboża. Umiejętne wykorzystanie genetycznej odporności pozwala na znaczne obniżenie nasilenia chorób i zwiększenia plonów oraz poprawienia stabilności plonowania. Mączniak prawdziwy jęczmienia, powodowany przez grzyb *Blumeria graminis* (DC.) E. O. Speer f. sp. *hordei* oraz rdza karłowa powodowana przez *Puccinia hordei* Otth. należą do najgroźniejszych chorób tego zboża. Rozprzestrzenianiu się tych patogenów sprzyja uprawa odmian jęczmienia na dużych powierzchniach, zwykle z identycznymi lub pokrewnymi typami odporności. Jednorodność genetyczna odmian

uprawnych, duża adaptacyjność tych grzybów, przenoszenie przez wiatr na duże odległości, stosowanie pestycydów, mutacje i rekombinacje, powodują genetyczne zmiany w ich populacji i szybkie rozprzestrzenianie się nowych wirulentnych genotypów, co wywołuje utratę, wysokiej początkowo efektywności genów odporności na te patogeny i stanowi stałe zagrożenie dla źródeł odporności stosowanych w hodowli. W latach sprzyjających rozwojowi patogenów, straty mogą przekraczać nawet 40% plonu ziarna.

W produkcji rolniczej ograniczenie strat w produkcji zbóż, powodowanych przez te grzyby można osiągnąć poprzez właściwie ułożone płodozmiany, odpowiednią agrotechnikę oraz dobór gatunków i odmian do uprawy. Najskuteczniejszą jednak metodą kontrolowania i ograniczania skutków tych chorób jest wprowadzenie do uprawy odmian z genetycznie uwarunkowaną odpornością. Dlatego temat pracy doktorskiej podjętej przez Pana mgr inż. Piotra Słowackiego jest niezwykle ważny nie tylko dla poszerzenia wiedzy z zakresu genetyki odporności jęczmienia zwyczajnego na rdzę karłową i poszukiwania nowych źródeł odporności na tę chorobę, ale przede wszystkim dla praktycznej hodowli tego zboża.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska liczy 94 strony. Zawiera 5 tabel, 20 rycin i 4 załączniki dokumentujące zastosowane w badaniach markery oraz wybrane wyniki uzyskane na podstawie analiz DArT-seq. Według zastosowanej numeracji w tekście pracy Autor podaje 21 rycin, jednak moim zdaniem jest ich 20 ponieważ nie ma ryciny nr 19. W pracy Doktorant wykorzystał cytowania 169 pozycji literaturowych i 8 stron internetowych. Zdecydowana większość cytowanej literatury jest obcojęzyczna (z wyjątkiem dwóch pozycji) i najnowsza obejmująca prace opublikowane w ostatnich latach. Praca doktorska składa się ze streszczeń przedstawionych w językach: polskim i angielskim, uzupełnionych wykazem skrótów oraz ośmiu rozdziałów: Wstęp i cel pracy, Przegląd literatury, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Spis literatury i Załączniki. Trzy rozdziały: Przegląd literatury, Materiał i metody oraz Wyniki podzielone są na podrozdziały. Numeracja podrozdziałów w rozdziale 3 jest niewłaściwa. Podrozdziały 3.3 i 3.4 występują dwa razy. W sumie rozdział 3 zawiera 11 podrozdziałów. Powinno być od 3.1 do 3.11 a jest od 3.1 do 3.9. Podczas przygotowywania pracy do druku należy te nieścisłości usunąć. W tekście pracy występują pominięcia liter i wyrazów oraz błędy w deklinacji np. na str. 35 „... zostały zdeponowane Krajowym Centrum”, a powinno być zostały „... zostały zdeponowane w Krajowym Centrum”, na str. 40 „... zlokalizowane tym samym ramieniem” a powinno być „... zlokalizowane na tym samym ramieniu”, na str. 57 jest zapis „... zlokalizowanych na krótkiego ramienia ...”, a powinno być „... zlokalizowanych na krótkim ramieniu ...”, na str.

62 jest zapis „Również Instytucie ...”, a powinno być „Również w Instytucie ...”. W redakcji tak ważnych opracowań jakim jest praca doktorska, należy unikać takich błędów.

W rozdziale pierwszym Pan Magister po krótkim wprowadzeniu wymienił cel pracy, który przedstawił w czterech punktach. Cel pracy jest sformułowany prawidłowo i jest ściśle powiązany z tytułem pracy doktorskiej. W zrealizowanych badaniach cele te zostały osiągnięte.

Przegląd literatury jest opracowany bardzo dobrze. W pierwszych akapitach Doktorant przedstawił pochodzenie jęczmienia zwyczajnego oraz znaczenie gospodarcze tego zboża. Uzasadził również potrzebę hodowli odpornościowej na patogeny grzybowe w nawiązaniu do strategii Unii Europejskiej jakim jest „Europejski Zielony Ład”, a zwłaszcza koniecznością zredukowania ilości pestycydów stosowanych w rolnictwie. W kolejnych akapitach Pan Magister przedstawił taksonomię, biologię oraz cykl życiowy i epidemiologię grzyba *Puccinia hordei*. Następnie opisał mechanizmy odporności roślin na biotroficzne patogeny grzybowe. W kolejnych rozdziałach scharakteryzował zasoby genowe jęczmienia z uwzględnieniem trzech pul genetycznych. W podrozdziale 2.7 Doktorant przedstawił krótką charakterystykę znanych genów odporności na rdzę karłową. Dobór cytowanych pozycji piśmiennictwa oraz redakcja tego rozdziału jest właściwa i nie budzi zastrzeżeń.

W kolejnym rozdziale Pan Magister przedstawił materiał i metody badań. W pierwszym akapicie tego rozdziału Doktorant podał metodę wyprowadzenia badanych linii jęczmienia jarego Ph873-2 i Ph4974-4 wyselekcjonowanych z populacji miejscowych skolekcjonowanych w Tunezji i we Włoszech (Sardynia). Zastosowanie metody SSD w celu wyselekcjonowania linii jest poprawne i często stosowane w tego typu pracach, z uwagi na trudności badań populacji miejscowych, związane z nich niejednorodnością genetyczną. W podrozdziale 3.3. „Populacje mieszańcowe” na str. 36 Autor podaje, że do testów alleliczności wykorzystano mieszańce uzyskane ze skrzyżowania linii jęczmienia jarego Ph873-2 i Ph4974-4 z odmianami i liniami z określonymi genami odporności zlokalizowanymi na chromosomach 2H i 1H. Należało wyjaśnić dlaczego wybrano tylko taki zestaw linii, gdyż czytelnik dowiaduje się o tym dopiero po zapoznaniu się z analizami DArT w rozdziale „Wyniki”. Sugeruję również unikać takich określeń jak „Testy alleliczności ... testowano”. W kolejnym podrozdziale 3.3. „Testy fitopatologiczne” Doktorant w pierwszym akapicie napisał „Po tym zabiegu zarodniki przygotowywano do inokulacji” Użyte sformułowanie sugeruje, że zarodniki były poddawane pewnym zabiegom, ale nie podano jakim. Moim zdaniem takich dodatkowych zabiegów nie wykonywano, a tylko zawieszono je w wodzie z dodatkiem TWEEN 20. Sugeruję również nie używać określenia nasion dla

owoców jakimi są ziarniaki (trzeci akapit str. 37). Z treści rozdziału „Materiał i metody” wynika, że część badań została wykonana w Stanach Zjednoczonych w Uniwersytecie w Minnesocie. Należało podać, czy Doktorant był na stażu i sam wykonał te badania, czy też badania te zostały zlecone do wykonania w USA. Pozostała część rozdziału „Materiał i metody” dotyczy opisu izolacji i metod analiz DNA oraz analizy sprzężeń jest zredagowana poprawnie.

W rozdziale czwartym Doktorant omawia wyniki badań, które są przedstawione w tabelach oraz na rycinach. Należy podkreślić, że wyniki są nowatorskie. Obejmują identyfikacje nowych genów odporności jęczmienia na rdzę karłową, ich charakterystyki, mapowania oraz postulowania funkcji białek kodowanych przez te geny. Wyniki są wartościowe. Wnoszą nową wiedzę z zakresu genetyki odporności jęczmienia na rdzę karłową, a tym samym przyczyniają się do rozwoju dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Jednak również i tym rozdziale występują pewne błędy. W tabeli nr 4 Doktorant podał wyniki testów fitopatologicznych. Do oceny porażenia w doświadczeniach przeprowadzonych w IHAR-PIB w Radzikowie użyto skali Levine i Cherewick (1952), która przyjmuje wartości od 0 do 4, zaś w testach wykonanych w Stanach Zjednoczonych do oceny porażenia wykorzystano skalę opracowaną przez Parka i in. (2015), która też przyjmuje wartości od 0 do 4. Analizując wyniki porażenia uzyskane w doświadczeniach przeprowadzonych w USA podano określenia np. 210 czy 213, Takich wartości żadna skala nie przyjmuje. Jeżeli Doktorant chciał podać, że szereg roślin była porażona w stopniu 1, a inne w stopniu 2 lub 3, to należało to zaznaczyć, a nie pisać 213, gdyż maksymalną wartością porażenia jaką skala podaje jest 4. W tabeli nr 5 podano wyniki segregacji odporności analizowanych populacji w testach alleliczności. Uzyskane wyniki segregacji roślin odpornych i wrażliwych na izolat Ph604 *Puccinia hordei* w pokoleniu F₂ mieszańców Ph873-2×L94 nie wskazują na monogeniczny model dziedziczenia, a w segregacji rodzin w F₃ już tak. Czemu spośród odpornych w F₂ homozygot i heterozygot w liczbie 125, w F₃ pojawiło się 149 rodzin, a z 70 roślin nieodpornych w F₂ było tylko 43 rodziny nieodporne w F₃. W tekście pracy w rozdziale „Wyniki” należało wytłumaczyć te rozbieżności. Próbę wyjaśnienia tego problemu Doktorant podejmuje dopiero w rozdziale „Dyskusja” na str. 63.

Rozdział „Dyskusja” jest właściwie opracowany i zredagowany. Doktorant wykazał dobrą znajomość omawianych w pracy problemów i umiejętność porównania ich z literaturą światową oraz uzyskanych wyników przedstawionych w pracy doktorskiej z badaniami innych autorów. Pozycje piśmiennictwa są trafnie dobrane i cytowane w powiązaniu z uzyskanymi wynikami badań własnych dotyczących identyfikacji i mapowania nowych

genów odporności na rdzę karłową jęczmienia zwyczajnego oznaczonych jako *Rph873-2* i *Rph4974-4*. Rozdział „Dyskusja” zakończony jest wartościowym podsumowaniem uzyskanych wyników badań oraz planami dalszej ich kontynuacji.

Rozdział 6 zawiera cztery wnioski. Pierwszy wniosek jest raczej ogólnym stwierdzeniem faktów znanych od wielu lat. Pozostałe wnioski są logiczne i wynikają ściśle z przeprowadzonych badań oraz odnoszą się do uzyskanych wyników. Moim zdaniem wniosków można było przedstawić więcej. Doktorant we wnioskach pominął te, które powinny odnosić się do wyników uzyskanych w testach alleliczności, gdyż w nich określił model dziedziczenia. Nie ma także wniosków dotyczących postulowanych funkcji białek kodowanych przez geny *Rph873-2* i *Rph4974-4*.

W rozdziale 7 Doktorant zamieścił spis literatury głównie zagranicznej i kilku pozycji krajowej. Studia literatury z pewnością pomogły Panu Magistrowi w zrozumieniu i właściwej interpretacji realizowanych w pracy problemów badawczych.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska jest interesująca. W porównaniu z literaturą światową, stanowi bogate źródło rozszerzonych informacji z zakresu poszukiwania nowych źródeł odporności na rdzę karłową jęczmienia zwyczajnego oraz genetyki i hodowli odpornościowej na ten patogen. Uzyskane wyniki badań przedstawione w pracy doktorskiej poszerzają wiedzę i wnoszą nowe wartości poznawcze w rozwój dyscypliny naukowej rolnictwo i ogrodnictwo. Uwagi, które przedstawiłem w recenzji nie umniejszają wartości merytorycznej pracy. Uważam, że spełnia ona wymogi stawiane pracom doktorskim określone w ustawie 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 z późn. zm.).

Stawiam wniosek do Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie o dopuszczenie pracy doktorskiej mgr inż. Piotra Słowackiego pt. „Identyfikacja genów odporności na rdzę karłową (*Puccinia hordei* Otth.) w odmianach miejscowych jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L” do dalszych etapów procedowania postępowania w sprawie nadania stopnia doktora i publicznej obrony pracy doktorskiej zgodnie z obowiązującymi wymaganiami prawnymi.

