

dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, prof. uczelni  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

Lublin, 23.08.2022 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani magister Joanny Dziurdziak  
pt. „Charakterystyka zmienności genetycznej  
wybranych obiektów *Hordeum vulgare* L.”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani magister Joanny Dziurdziak została zrealizowana pod kierunkiem Pani dr hab. Mai Karoliny Boczkowskiej, profesora IHAR, pracownika Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych, Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB w Radzikowie. Funkcję promotora pomocniczego pełniła Pani dr Małgorzata Targońska-Karasek będąca pracownikiem Ogrodu Botanicznego – Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej PAN w Powsinie. Praca doktorska została wykonana w Krajowym Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR-PIB w Radzikowie. Badania prowadzono w ramach Programu Wieloletniego: 2015-2020 „Stworzenie naukowej podstawy postępu biologicznego i zachowanie zasobów genowych roślin jako źródła innowacji wspierających zrównoważone rolnictwo i bezpieczeństwo żywnościowe kraju” koordynowanego przez IHAR-PIB i finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi RP.

Podstawą ocenianej dysertacji są trzy oryginalne publikacje naukowe oraz poprzedzające je polskojęzyczne opracowanie. Przedstawione do oceny publikacje ukazały się w latach 2020 – 2022 w recenzowanych, międzynarodowych czasopismach, indeksowanych w bazie JCR (*Journal Citation Reports*) oraz umieszczonych w wykazie czasopism naukowych MEN. Sumaryczny współczynnik wpływu (IF, impact factor) czasopism, w których opublikowano prace wynosił w chwili składania doktoratu do oceny 12,758, a obecnie wartość ta wzrosła do 14,106. Łączna liczba cytowań prac wynosi 4 (stan z dnia 20.08.2022), natomiast suma punktów MEN - 340. Wszystkie prace są wieloautorskie i w każdej z nich Doktorantka jest pierwszym autorem. Biorąc pod uwagę wymóg prawny oceny indywidualnego wkładu Doktoranta w powstanie publikacji (Dz U 2014, poz 1383; §6 ust. 5 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października 2014 w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora) i uwzględniając zarówno pisemne oświadczenia złożone przez wszystkich współautorów opublikowanych prac, jak i wkład poszczególnych autorów w proces powstawania prac określony w deklaracjach wkładu



zawartych w tekstach publikacji, można stwierdzić, że rola Doktorantki w planowaniu, wykonywaniu i opracowaniu otrzymanych wyników badań była istotna.

Rozprawa doktorska została przygotowana w języku polskim. Zawarte w rozprawie doktorskiej opracowanie poprzedzające cykl publikacji liczy 38 stron i obejmuje, poza stroną tytułową, oświadczeniami promotora i autora oraz informacją o finansowaniu badań, następujące rozdziały: Streszczenie rozprawy doktorskiej, Summary of doctoral thesis, Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, Wykaz skrótów, Wprowadzenie, Hipotezy badawcze i cele pracy, Materiały i metody, Omówienie wyników, Wnioski oraz Spis literatury. W dalszej części znajdują się wydruki publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia dotyczące udziału Doktorantki i współautorów w powstawaniu prac.

Streszczenie w języku polskim odpowiada streszczeniu w języku angielskim. Przedstawia zwięzłą charakterystykę kolekcji gatunków z rodzaju *Hordeum* przechowywaną w Krajowym Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR-PIB w Radzikowie. Porusza problem braku szczegółowych informacji na temat fenotypu i genotypu obiektów zgromadzonych w kolekcji, co ogranicza ich wykorzystanie w nauce i hodowli. W kolejnym akapicie Autorka przedstawia cel i zakres prowadzonych badań oraz uzyskane wyniki, szczególnie dotyczące wyodrębnienia specjalnej kolekcji form lokalnych o dużym potencjalnie poszerzenia puli genów wykorzystywanej w hodowli.

W rozdziale Wprowadzenie Autorka dokonuje charakterystyki rodzaju *Hordeum*, ze szczególnym uwzględnieniem jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*) oraz jęczmienia dzikiego (*Hordeum spontaneum* Koch). Następnie Autorka ogólnie charakteryzuje światową oraz krajową kolekcję gatunków z rodzaju *Hordeum* zgromadzoną w bankach genów, a następnie szczegółowo opisuje formy jęczmienia o konkretnym statusie biologicznym, a więc odmiany miejscowe i odmiany hodowlane w aspekcie ich wykorzystania w pracach naukowych i hodowlanych. Przedstawia również tradycyjne i nowoczesne metody hodowlane wykorzystywane w tworzeniu nowych, bardziej produktywnych i odpornych na stesy biotyczne i abiotyczne odmian. Kolejny podrozdział poświęcony jest badaniom zmienności genetycznej jęczmienia, ich celowości i stosowanym technikom identyfikacji zróżnicowania na poziomie DNA. Rozdział Wprowadzenie kończy Podsumowanie, w którym Autorka porusza kwestię tworzenia kolekcji podstawowych – core collection, czyli wyodrębniania z kolekcji jak najmniejszej liczby obiektów reprezentujących całkowitą zmienność gatunku. Jest to bardzo rozsądne podejście zabezpieczające pulę genetyczną gatunku przed przypadkową utratą wartościowych alleli, jak również zwiększające szansę na praktyczne wykorzystanie scharakteryzowanych materiałów o konkretnych cechach przez naukowców lub hodowców.

W kolejnym rozdziale przedstawiono hipotezy badawcze postawione w pracy oraz cele prowadzonych badań. Przyjęte w niniejszej pracy hipotezy zakładały, że (1) poziom zmienności genetycznej jęczmienia jarego ulega obniżeniu wraz z postępem hodowlanym, (2) formy wielorzędowe jęczmienia jarego wykazują odrębność genetyczną od form dwurzędowych, (3) odmiany miejscowe jęczmienia jarego z różnych rejonów świata reprezentują odrębne pule genowe, (4) pula genowa odmian historycznych jęczmienia jarego nie jest reprezentowana we



współczesnych odmianach, (5) w kolekcji jęczmienia jarego przechowywanej w KCRZG występują duplikaty, które można zidentyfikować jedynie na podstawie analiz molekularnych, (6) wyniki analizy zmienności genetycznej uzyskiwane przy użyciu różnych systemów markerowych wykazują niski poziom korelacji.

Nadrzędnym celem badań była charakterystyka puli genowej populacji miejscowych i odmian hodowlanych jęczmienia jarego zgromadzonych w kolekcji KCRZG IHAR-PIB w Radzikowie, a także podniesienie świadomości społeczności naukowców i hodowców w zakresie potencjału zgromadzonej kolekcji obiektów jęczmienia jarego oraz zwiększenie zainteresowania wykorzystaniem zasobów genowych w pracach badawczych i rozwojowych. Cele szczegółowe to m. in.: (1) identyfikacja obiektów jęczmienia jarego o wysokiej odporności na patogeny i zróżnicowanym tle genetycznym, (2) porównanie efektywności markerów ISSR i DArTseq w ocenie zróżnicowania kolekcji zasobów genowych jęczmienia jarego, (3) ocena zmian w puli genowej w trakcie 120 lat hodowli jęczmienia jarego w Polsce, (4) identyfikacja regionów genomu, w których widoczne są zmiany będące efektem hodowli.

Materiały i metody wykorzystane w pracy opisano w rozdziale kolejnym. Przedmiotem analiz były odmiany miejscowe jęczmienia jarego pochodzące z ekspedycji krajowych i zagranicznych, a także odmiany uprawne, zarówno pochodzące z kolekcji banku genów w Radzikowie, jak i pozyskane od hodowców. Zastosowane przez Doktorantkę metody obejmowały: izolację DNA, ocenę morfometryczną ziarna, identyfikację polimorfizmu DNA metodami ISSR i DArTseq oraz zaawansowaną analizę statystyczną danych.

W rozdziale Omówienie wyników zostały opisane cele i najważniejsze wyniki uzyskane w poszczególnych publikacjach, zaś w następnym rozdziale Autorka przedstawiła podsumowanie i wnioski sformułowane na podstawie przeprowadzonych badań. Opracowanie zakończono spisem literatury obejmującym 99 pozycji, niemal wyłącznie angielskojęzycznych i pochodzących z ostatnich kilkunastu lat.

Wchodzące w skład rozprawy doktorskiej publikacje, które były już uprzednio recenzowane, nie budzą zastrzeżeń. Prace stanowią logiczny i spójny układ, są napisane w sposób zrozumiały, cele są jasno sformułowane, metodyka i wyniki przedstawione z dbałością o szczegóły, a dyskusje i wnioskowanie przeprowadzone zostały prawidłowo.

Pierwsza praca wchodząca w skład rozprawy doktorskiej, opublikowana w czasopiśmie *Agronomy* dotyczy zróżnicowania genetycznego 64 polskich odmian miejscowych jęczmienia jarego zgromadzonych w latach siedemdziesiątych i osiemdziesiątych XX wieku w trakcie ekspedycji prowadzonych na terenie Polski. Podstawą do oceny były nie tylko dane molekularne uzyskane metodą ISSR, ale również informacje paszportowe obiektów zgromadzone na przestrzeni wielu lat i wyniki pomiarów morfometrycznych nasion. Nie zaobserwowano opisywanego w literaturze grupowania na formy dwu- i sześciorzędowe, ale wyodrębniono formy nagoziarniste od oplewionych. W obrębie badanych genotypów zidentyfikowano formy o zwiększonej odporności na patogeny lub poprawionym potencjale plonowania z uwagi na zwiększony rozmiar ziarna.

Głównym celem drugiej pracy opublikowanej w czasopiśmie *Agronomy* była dalsza charakterystyka odmian miejscowych jęczmienia jarego, opisanie struktury genetycznej

populacji i ocena poziomu heterogeniczności obiektów. W pracy poszerzono zestaw badanych dotychczas miejscowych odmian krajowych o odmiany pochodzące z Europy Środkowowschodniej i Azji Wschodniej. Genotypowanie przeprowadzono metodą DArTseq, a uzyskane wyniki porównano z wynikami uzyskanymi poprzednio metodą ISSR. Analiza struktury wykazała obecność dwóch pól genowych. Podobnie jak w pracy poprzedniej odrębnemu grupowaniu uległy formy nieoplewione. Z kolei zmapowanie sekwencji DArTseq do genomu referencyjnego jęczmienia umożliwiło szczegółową analizę fragmentu chromosomu 7H, na którym zlokalizowany jest gen *nud* determinujący brak łuski.

W trzeciej pracy, zdecydowanie najlepszej wśród ocenianych, opublikowanej w czasopiśmie *International Journal of Molecular Sciences*, przeprowadzono analizę zróżnicowania odmian historycznych i współczesnych reprezentujących 120 lat polskiej hodowli jęczmienia jarego. Celem analizy było zbadanie zmian mających miejsce w ciągu wieloletniego procesu hodowlanego, identyfikacja śladów ukierunkowanej selekcji, ocena poziomu heterogeniczności, identyfikacja duplikatów i selekcja kolekcji podstawowej. Genotypowanie przeprowadzono metodą DArTseq. Oszacowany poziom heterozygotyczności obserwowanej spadał stopniowo wraz z upływem czasu, natomiast poziom wsobności wzrastał, co wskazuje na coraz większe wyrównanie materiałów. Analiza dystansu genetycznego wykazała postępujące zawężanie puli genowej, z najwyższej po II wojnie światowej, do najniższej w odmianach współczesnych. Analiza struktury wykazała obecność aż 11 pul genowych. Zidentyfikowano również regiony na chromosomach 5H i 3H, na których wskutek ukierunkowanej selekcji utrwaliły się nowe allele wprowadzone w trakcie procesu hodowlanego. Efektem dodatkowym analizy była identyfikacja duplikatów oraz wyodrębnienie kolekcji podstawowej złożonej z 50 obiektów.

W mojej ocenie publikacje zostały przygotowane w sposób bardzo staranny, niemniej jednak mam kilka spostrzeżeń i uwag dotyczących samej rozprawy doktorskiej:

1. Tytuł rozprawy wydaje mi się zbyt ogólny. Warto byłoby podkreślić, że prace dotyczyły charakterystyki odmian miejscowych jęczmienia jarego zgromadzonych w banku genów IHAR w Radzikowie oraz odmian hodowlanych.
2. W rozprawie nie udało się uniknąć błędów stylistycznych i interpunkcyjnych.
3. Przygotowane przez Doktorantkę opracowanie w języku polskim czyta się gorzej, aniżeli tekst angielski zawarty w publikacjach. Być może wynika to z faktu, że obecnie w pracach naukowych posługujemy się głównie językiem angielskim.
4. Zauważyłam niezgodność w liczebności kolekcji *Hordeum* KCRZG przedstawionej w pracy nr 1, a opisem w rozprawie doktorskiej (6597 versus 7427). Podobnie, nie są jednakowe liczebności obiektów jęczmienia w światowych kolekcjach – 370 i 340 tysięcy.
5. Dla osoby nie związanej z bankami genów pojęcie ‘active collection’ stosowane w pracy nr 2 może nie być zrozumiałe.
6. W spisie literatury niemal każda pozycja jest sformatowana w inny sposób – nie zachowano jednolitego stylu zapisu poszczególnych pozycji literatury.



Powyższe zastrzeżenia nie umniejszają w żaden sposób wartości merytorycznej pracy. Ponadto w kolejnych publikacjach można zauważyć postęp, jaki poczyniła Doktorantka w zakresie statystycznej analizy danych i ich interpretacji.

Za najważniejsze osiągnięcia rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Dziurdziak uważam: (1) scharakteryzowanie zróżnicowania genetycznego kolekcji polskich odmian miejscowych jęczmienia jarego (2) identyfikację obiektów unikatowych o dużym potencjale aplikacyjnym zawierających niewykorzystaną w hodowli pulę genową. Za wartościowe uważam również stwierdzenie: (1) wysokiej spójności wyników uzyskanych metodami DArTseq i ISSR, (2) odrębności odmian o ziarnie nagim i oplewionym oraz braku odrębności odmian miejscowych o kłosie wielorzędowym i dwurzędowym, (3) spadku heterogeniczności obiektów współczesnych w stosunku do historycznych, (4) zmian jakościowych w puli genowej polskich hodowlanych odmian jęczmienia jarego na przestrzeni 120 lat hodowli, (5) śladów ukierunkowanej selekcji w obrębie loci zlokalizowanych na chromosomach 3H i 5H. Cennym jest również spostrzeżenie, że mimo braku istotnych różnic w poziomie zróżnicowania genetycznego najstarszych i współczesnych odmian jęczmienia jarego, w trakcie 120 lat hodowli doszło do erozji genetycznej natywnej puli genowej, co wskazuje, że konieczne jest wprowadzenie do hodowli wysoce zróżnicowanych, odmiennych genetycznie od współczesnych odmian materiałów kolekcyjnych. W związku z tym, dalsza wszechstronna charakterystyka zasobów genowych jęczmienia jarego zgromadzonych w Krajowym Centrum Roślinnych Zasobów Genowych, stworzenie kolekcji bazowej i kolekcji specjalnych umożliwiłyby wykorzystanie ich ukrytego potencjału. Warto podkreślić w tym miejscu przedstawiony powyżej aspekt aplikacyjny prowadzonych przez Doktorantkę badań. Nie podlega dyskusji fakt, iż szczegółowy opis różnorodności genetycznej jest koniecznym warunkiem skutecznej ochrony i wykorzystania zasobów genowych oraz postępu w programach hodowli roślin uprawnych.

Pytania dotyczące pracy:

1. Proszę o przedstawienie systematyki rodzaju *Hordeum*. Jaki podział obecnie obowiązuje i jakie nazwy gatunkowe w języku polskim są używane w odniesieniu do gatunków wykorzystywanych w pracach naukowo-hodowlanych. Na czym polega różnica między jęczmieniem zwyczajnym a uprawnym?
2. Biorąc pod uwagę ogromną liczebność obiektów jęczmienia w banku genów (7427 lub 6597), na jakiej podstawie dokonano wyboru analizowanego materiału?
3. Scharakteryzowano z udziałem markerów molekularnych zaledwie kilka procent całej kolekcji *Hordeum* czy w związku z tym można mówić o wyodrębnianiu *core collection*? Czy genotypowana próba była reprezentatywna, szczególnie, że wśród analizowanych obiektów aż kilkanaście było zduplikowanych, a dwie odmiany reprezentowane były przez 3 genotypy? Znacznie zredukowało to i tak niewielką liczbę 83 odmian.
4. W jaki sposób można zapobiec zawężaniu zmienności w obrębie materiałów kolekcyjnych i zachować wyjściowe populacje bez utraty heterogeniczności? Czy wiadomo w jakim





stopniu zmniejsza się zróżnicowanie w obrębie poszczególnych obiektów w trakcie kolejnych cykli regeneracji materiału?

5. Czy materiały skolekcjonowane pod koniec XX wieku nadal stanowią odmiany miejscowe? Czy istnieje możliwość, że są to jednak odmiany hodowlane? Czy udało się zidentyfikować wśród polskich odmian miejscowych odpowiadające im odmiany hodowlane?

## WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską Pani mgr Joanny Dziurdziak oceniam bardzo pozytywnie. Stanowi ona oryginalne, kompleksowe opracowanie poszerzające aktualny stan wiedzy. Cele pracy zostały osiągnięte, a uzyskane wyniki przedstawiają wartość poznawczą. Scharakteryzowane materiały roślinne będą miały zastosowanie w hodowli twórczej jęczmienia jarego.

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Joanny Dziurdziak pt. 'Charakterystyka zmienności genetycznej wybranych obiektów *Hordeum vulgare* L.' spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz.1789) stawiane rozprawom doktorskim, dlatego też zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB w Radzikowie z prośbą o dopuszczenie Pani mgr Joanny Dziurdziak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Edyta Penaus-Gusła

