

Poznań, 24.10.2023 r.

Prof. UPP dr hab. Jan Bocianowski
Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28
60-637 Poznań

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Ady Dorczyk,
z tytułem: „Piramidyzacja genów odporności w pszenicy jarej”

1. Podstawa formalno-prawna opracowania recenzji

Recenzja została opracowana na prośbę Przewodniczącego Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu Pana prof. dr hab. Cezarego Kabały na mocy Uchwały nr 77.RO.2023 z dnia 5 września 2023 roku.

Przedstawiona praca doktorska została wykonana w firmie Hodowla Roślin Smolice Sp. z o.o. Grupa IHAR pod kierunkiem dr hab. inż. Kamili Nowosad, profesor Uczelni.

2. Ocena wyboru problematyki badawczej

Problematyka naukowa, którą podjęła w swojej pracy doktorskiej Pani mgr inż. Ada Dorczyk znajduje się w obszarze trudnych badań z zakresu hodowli odpornościowej pszenicy, o dużych wartościach poznawczych i aplikacyjnych, z próbą otrzymania piramidy genów utrudniającej przełamywanie odporności przez nowe patogeny. Tematyka podjęta przez Panią Dorczyk jest niezwykle ważna, ponieważ pszenica jara odgrywa kluczową rolę w światowym przemyśle spożywczym, dostarczając nie tylko podstawowych składników diety, ale również stanowiąc główne źródło dochodu dla milionów rolników na całym świecie. Rozwijające się choroby roślin stanowią poważne zagrożenie dla jej plonów. W odpowiedzi na te wyzwania, naukowcy zaczęli eksperymentować z różnymi metodami, np. z piramidyzacją genów odporności. Piramidyzacja genów odporności polega na jednoczesnym wprowadzaniu do rośliny kilku genów odpornościowych, które chronią ją przed różnymi patogenami. W przypadku pszenicy jarej, oznacza to wprowadzenie do jednej rośliny genów, które zapewniają odporność na różne odmiany rdzy i mączniaka prawdziwego. Proces ten jest często realizowany za pomocą technik biotechnologicznych ale może być również skutecznie

zrealizowany za pomocą programu krzyżowań, co rozwiązuje problemy wprowadzenia do uprawy roślin modyfikowanych genetycznie. Dzięki piramidyacji, pszenica jest odporna na szerszy zakres patogenów. Kombinacja różnych genów odpornościowych tworzy silniejszy i bardziej zróżnicowany system obronny. Odporność uzyskana dzięki piramidyacji jest bardziej trwała niż ta oparta na pojedynczych genach. Patogeny mają znacznie trudniejsze zadanie w przełamywaniu barier obronnych rośliny. Dzięki zmniejszeniu ryzyka utraty plonów z powodu chorób, piramidyacja genów odporności przyczynia się do zwiększenia bezpieczeństwa żywnościowego, zapewniając stabilne dostawy pszenicy. Piramidyacja genów odporności w pszenicy jarej to obiecująca droga ku zwiększeniu wydajności i trwałości upraw. Poprzez połączenie występujących w naturze genów odporności, można tworzyć rośliny bardziej odporne na choroby, co w konsekwencji przekłada się na zmniejszenie kosztów produkcji i bardziej stabilne dostawy żywności dla ludzkości. W miarę jak ta technologia ewoluuje, kluczowe jest zachowanie zrównoważonego podejścia, które uwzględnia zarówno potrzeby ludzi, jak i środowiska naturalnego. Wobec powyższego wybranie tej tematyki badań uważam za bardzo ważne i uzasadnione.

3. Formalna ocena pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w formie monografii zgodnie z wymogami stawianymi tego typu opracowaniom. Praca liczy 104 strony i została podzielona na 13 rozdziałów: „Wprowadzenie” (1), „Przegląd literatury” (2), „Materiał i metody” (3), „Wyniki – Analiza statystyczna” (4), „Dyskusja” (5), „Wnioski” (6), „Streszczenie” (7), „Abstract” (8), „Literatura” (9), „Spis źródeł internetowych” (10), „Spis rysunków” (11), „Spis rycin” (12) i „Spis tabel” (13). W obrębie trzech rozdziałów: „Przegląd literatury”, „Materiał i metody” oraz „Wyniki – Analiza statystyczna”, Autorka wyodrębniła liczne podrozdziały, dzięki którym uporządkowano zakres prowadzonych prac dotyczących rozprawy. Przyjęty przez Autorkę podział jest przejrzysty i spójny, a wszystkie rozdziały i podrozdziały mają właściwe proporcje. Cel pracy, czyli piramidyacja genów odporności na rdzę brunatną, rdzę żółtą oraz mączniaka prawdziwego traktuje o głównym założeniu rozprawy, której wyniki będzie można wykorzystać do przyszłych prac w tworzeniu nowych odmian odpornych na porażenie przez wymienione patogeny. Konsekwencją tych prac powinno być zwiększenie potencjału plonotwórczego tychże odmian. „Wprowadzenie”, „Przegląd literatury”, „Materiał i metody” oraz „Wyniki – Analiza statystyczna” zawierają liczną dokumentację w formie 32 tabel, dwóch rysunków oraz 26 rycin. Prezentowana praca

doktorska zawiera bogate, właściwie dobrane i aktualne piśmiennictwo (183 pozycje literaturowe). Podsumowując uważam, że układ opracowania jest typowy dla rozprawy doktorskiej, logiczny, bardzo przejrzysty i spełnia wymagania stawiane tego typu pracom.

4. Merytoryczna ocena pracy

Tytuł

Tytuł pracy doktorskiej jest krótki, jednak w pełni odpowiada zakresowi prowadzonych, a następnie opisanych w dysertacji badań.

Wprowadzenie

„Wprowadzenie” zostało ujęte przez Autorkę w sposób syntetyczny. Zawiera wszystkie niezbędne informacje pozwalające zorientować się czytelnikowi w tematyce, która dotyczy prowadzonych badań. Autorka scharakteryzowała pszenicę zwyczajną jako zboże istotne w kontekście żywieniowym. „Wprowadzenie” porusza temat podatności na choroby powodowane przez grzyby jako jeden z wielu czynników determinujących plon ziarna. Autorka wskazuje dwa sposoby ograniczania występowania chorób w zbożach: ochronę i zwalczanie chemiczne oraz wykorzystanie odporności genetycznej. Następnie szeroko opisuje hodowlę odpornościową. Tym samym płynnie przechodzi do zadań i celów współczesnej hodowli, które osiągnąć można wykorzystując wszystkie dostępne źródła genetycznej odporności. Pani magister inżynier Ada Dorczyk wymienia dwie ogólne klasy genów odporności na patogeny: specyficzne dla rasy lub szczepów i warunkujące odporność roślin dorosłych. „Wprowadzenie” Doktorantka kończy postawieniem celu pracy, którym jest piramidyzacja genów odporności na rdzę brunatną, rdzę żółtą oraz mączniaka prawdziwego. Piramidyzację tą będzie można wykorzystać w pracach nad tworzeniem nowych odmian odpornych na porażenie przez wymienione patogeny, co powinno skutkować zwiększeniem ich potencjału plonotwórczego. „Wprowadzenie” jest zredagowany poprawnie.

Uwagi

W tej części pracy pojawiły się drobne błędy interpunkcyjne.

Przegląd literatury

W bardzo obszernym rozdziale „Przegląd literatury” Autorka przedstawiła aktualny stan wiedzy w zakresie zagadnień dotyczących prowadzonych badań. Wyczerpujący przegląd literatury udokumentowany jest licznymi doniesieniami, co wskazuje na bardzo dobre rozpoznanie tematu i dużą wiedzę Doktorantki. Rozdział „Przegląd literatury” został podzielony na osiem podrozdziałów, co czyni pracę bardzo czytelną i przejrzystą. Szczególnie, że rozważania dotyczą szerokiego zakresu wiedzy: od pochodzenia pszenicy zwyczajnej i jej znaczenia, poprzez choroby powodowane przez patogeny i hodowlę odpornościową, do zagadnienia piramidyzacji genów i genów odporności. Duży nacisk w „Przeglądzie literatury” Doktorantka kładzie na możliwości wykorzystania markerów molekularnych jako uzupełnienie w opracowywaniu odmian odpornych na choroby. Powoływanie się na liczne, najnowsze publikacje naukowe świadczy o rzetelnym podejściu Autorki do zagadnienia rozważanego w ocenianej pracy doktorskiej.

Uwagi

1. Na stronie 9 można przeczytać: „Pszenica stanowi połowę kalorii spożywanych przez ludzi”. Jest to skrót myślowy. Zapewne Autorce chodziło o „Produkty z pszenicy”, a nie „Pszenicę”.
2. Na stronie 10. Doktorantka napisała: „Spotęgowana zmienność klimatu, częste ekstremalne zjawiska pogodowe oraz nowe rasy patogenów i szkodników dodatkowo zagrażają **liniowemu** wzrostowi wydajności w przyszłości.” Proponowałbym usunięcie wyrazu „liniowemu”. Wzrost ten może mieć inną zależność, np. kwadratową. Termin „spotęgowana” również nie jest zbyt trafny. Sugerowałbym usunięcie tego słowa lub zmianę na bardziej odpowiedni.
3. Również na stronie 10 pojawia się sformułowanie „W Polsce, jak i Unii Europejskiej”. Wystarczyłoby „W Unii Europejskiej” lub, jeżeli chciano podkreślić Polskę „W Polsce, jak i w innych państwach Unii Europejskiej”.
4. Poprosiłbym o wyjaśnienie, w kontekście konfliktu dat, ostatniego akapitu z podrozdziału 2.7: „Piramidyzacja genów nabrała nowego znaczenia, gdy w **2014** roku w wyniku działań Unii Europejskiej również w Polsce została wprowadzona zintegrowana ochrona roślin (Ehler, **2006**).”
5. W tej części pracy pojawiły się drobne błędy interpunkcyjne oraz literówki.

Materiał i metody

Charakterystyka materiału roślinnego przeznaczonego do badań została przedstawiona w formie opisu oraz tabel. Poza drobnymi błędami interpunkcyjnymi, opis ten jest poprawny. Autorka szczegółowo scharakteryzowała odmiany stanowiące komponenty rodzicielskie do krzyżowań, a następnie przejrzysto przedstawiła kombinacje złożone. Opis zastosowanych metod badawczych jest bardzo obszerny i obejmuje prawie wszystkie (poza korelacją rangową i testem post-hoc) zastosowane w dysertacji. Bardzo obszerny opis niektórych metod nie był konieczny; doceniam jednak zaangażowanie Autorki w dokładne zrozumienie stosowanych narzędzi badawczych. Przeprowadzenie tak wielu analiz wymagało bardzo dużego zaangażowania Doktorantki.

Uwagi

1. Podrozdział „3.1 Materiał” kończy się zdaniem „Część nasion z zebranych rzędków została wysłana do Uniwersytetu Przyrodniczym we Wrocławiu, w celu dalszej analizy.”. O jaką „**dalszą analizę**” chodzi?
2. Model liniowy przedstawiony na stronie 29 oraz objaśnienia symboli tam zawartych są zapisane podwójnie.
3. „Założenie dotyczące normalności rozkładu błędów modelu sprawdzono wykonując histogram oraz wykres qqPlot.” (str. 29). Normalność rozkładu weryfikuje się odpowiednim testem. Wykresy służą jedynie do graficznej prezentacji.
4. Na stronach 30 i 31 Autorka powołuje się na Tabele x i y.
5. W podrozdziale „3.2.2 Analiza statystyczna wyników genotypowania” niepotrzebnie zawarto **pełne** dane bibliograficzne cytowanych pozycji literaturowych.
6. W tym samym podrozdziale podano wzór Nei. Jest to powszechnie znany wzór, jednak wypadałoby wyjaśnić znajdujące się w nim zmienne.
7. Zamiast ‘2d’ polecałbym „dwuwymiarowego”.
8. Należy zapisać „jednoczynnikowej analizy wariancji” zamiast „analizą jednoczynnikowej wariancji”.

9. W rozprawie pojawiają się powtórzenia, jak: „...do przeprowadzenia analizy ANOVA do analizy wariancji i...” (str. 32) i „...posiada dystrybucję rozkładu...” (str. 33). Wystarczyłoby „do przeprowadzenia analizy wariancji” i „...posiada rozkład ...”.

10. We wzorze na stronie 33 występuje parametr „ R_i ”. Zabrakło wyjaśnienia czego ten parametr dotyczy.

11. Analizę zmienności molekularnej (lub analizę wariancji molekularnej) oznacza się skrótem AMOVA.

Wyniki – Analiza statystyczna

Obszerne wyniki przeprowadzonych badań zostały przedstawione na 41 stronach oraz dodatkowej z tabelą bardzo, bardzo dużych rozmiarów. Rozdział ten został podzielony na cztery podrozdziały (choć brakuje numeru i nazwy pierwszego z nich), w których bardzo szczegółowo przedstawiono wyniki prowadzonych analiz. W podrozdziale pierwszym, podzielonym na sześć pod-podrozdziałów, Autorka przedstawiła wyniki analiz statystycznych obserwowanych cech. Opis dla każdej z omawianych cech jest analogiczny, a różnice wynikają z konieczności zastosowania dodatkowych testów w związku z brakiem normalności rozkładu. Do graficznej prezentacji Doktorantka zastosowała m.in. wykresy pudełkowe (błędnie nazwane blokowymi), nie w klasycznej wersji z medianą, lecz z wartością średnią. Jest to w tym przypadku o tyle ciekawsze, gdyż umożliwia bezpośrednie porównanie średnich dla poszczególnych kombinacji. Wykonanie analiz statystycznych w innej (poprawnej) kolejności uchroniłoby Autorkę przed przeprowadzeniem zbędnych analiz (w przypadku braku spełnienia założeń niepotrzebnie przeprowadzono analizę wariancji). Dla cech, dla których nie były spełnione założenia umożliwiające przeprowadzenia analizy wariancji zastosowano testy nieparametryczne, co wskazuje na umiejętne posługiwanie się Doktorantki metodami statystycznymi. Mogła przecież transformować dane do rozkładu zgodnego z normalnym i przeprowadzić testy parametryczne.

Uwagi

1. Brak pod tabelami objaśnień gwiazdek *.
2. Na podstawie wykresów nie można stwierdzić, czy założenia zostały spełnione. Weryfikuje się je odpowiednimi testami.
3. Występują powtórzenia typu „analiza ANOVA”.

4. W tej części pracy pojawiły się drobne błędy interpunkcyjne oraz literówki.
5. Tabela 11: przedstawione wartości wskazują na brak zróżnicowania między genotypami.
6. Tabele 13, 17 i 21: przedstawione wartości wskazują na zróżnicowanie między genotypami.

W kolejnym podrozdziale przedstawiono zależności pomiędzy markerami PCR a cechami odporności na choroby powodowane przez patogeny grzybowe. W tym celu zastosowano analizę korelacji rangowej Spearmana. Poprawniejsze byłoby zastosowanie analizy regresji, ponieważ wartości markerowe są zmiennymi niezależnymi. Podkreślić jednak należy, że uzyskane istotności lub ich brak przy zastosowaniu obu metod są zawsze identyczne. Analiza regresji oferuje dodatkowe informacje w postaci procenta zmienności obserwowanej cechy wyjaśnianej przez konkretny marker. Uzyskane wyniki mają bardzo dużą wartość poznawczą i zapewne przysłużą się na kolejnych etapach prac hodowlanych. Przy bardzo dużej liczbie przeprowadzonych testów Autorce umknęła istotność statystyczna w dwóch przypadkach (Tabela 23). Kolejny podrozdział 4.3 zawiera opisane w bardzo dokładny sposób zidentyfikowane markery PCR z podziałem na rodziny. W podrozdziale „4.4 Analiza dystansu genetycznego” scharakteryzowano badany materiał badawczy z wykorzystaniem kilku, uzupełniających się, metod jedno- i wielowymiarowych. Pomimo drobnych błędów związanych z nomenklaturą (np. MANOVA – AMOVA) przedstawienie uzyskanych wyników należy uznać za kompleksowe i wyczerpujące. Zastosowanie przez Doktorantkę metod wielowymiarowych do analizy danych eksperymentalnych należy uznać za bardzo trafne, chociaż niestety zbyt rzadko spotykane. Na uznanie zasługuje również zastosowanie algorytmu Monte Carlo do analizy podobieństwa genetycznego, czyli zrandomizowanego algorytmu dającego wynik optymalny z prawdopodobieństwem bardzo bliskim wartości jeden – w prezentowanych badaniach Autorka założyła próg o wartości 0,99.

Uwaga

1. Autorka powołuje się na drzewo dystansu genetycznego. Niestety w pracy zabrakło dendrogramu.

Dyskusja

W rozdziale siódmym „Dyskusja” Autorka na siedmiu stronach, umiejętnie opisuje wyniki swoich badań, porównując je z dokonaniem innych pracowników naukowych. Doktorantka

cytuje piśmiennictwo polskie i zagraniczne. Sposób prowadzenia dyskusji świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzonych badań i znajomości zagadnień związanych z pszenicą, chorobami powodowanymi przez grzyby oraz piramidyzacją genów odporności na rdzę brunatną, rdzę żółtą, mączniaka prawdziwego.

Uwagi

1. W „Dyskusji” pojawiły się drobne błędy interpunkcyjne.

Wnioski

Autorka na podstawie przeprowadzonych badań sformułowała osiem wyczerpujących wniosków, które potwierdzają ogólny stan wiedzy na temat rozpatrywanych zagadnień. Wnioski na tle prezentowanych wyników zostały wyciągnięte poprawnie, uwzględniając wszystkie przeprowadzone analizy.

Streszczenia

Streszczenia w języku polskim jak i angielskim napisane zostały w sposób czytelny, poprawny i rzeczowo informujący o zawartości pracy doktorskiej. Zabrakło w nich jedynie wyników.

Spis literatury

Prezentowana praca doktorska zawiera bogate, właściwie dobrane i aktualne piśmiennictwo (183 pozycje literaturowe – pozycja nr 56 jest powtórzeniem pozycji nr 55).

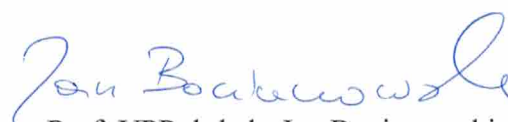
Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny praca doktorska Pani mgr inż. Ady Dorczyk pt. „Piramidyzacja genów odporności w pszenicy jarej” została wykonana w oparciu o starannie dobraną metodykę badań. Solidne wyniki zostały bardzo dobrze udokumentowane. Bardzo obszerny zakres krzyżowań, analiz statystycznych, analiz molekularnych wskazuje na bardzo dobre przygotowanie Autorki do prowadzenia interdyscyplinarnych prac naukowych. Na podkreślenie zasługuje zastosowanie różnorodnych metod badawczych (w tym jedno- i wielowymiarowych metod statystycznych) adekwatnych do rozwiązywanego problemu. Recenzowana praca wnosi nowe elementy użytkowe i poznawcze do zagadnień związanych z

piramidyzacją genów odporności na rdzę brunatną, rdzę żółtą i mączniaka prawdziwego w pszenicy jarej. Ze względu na ciągłe zmiany wirulencji patogenów zaproponowana metoda piramidyzacji genów odporności jest bardzo dobrym narzędziem do zastosowania w hodowli m.in. pszenicy. Ponadto Doktorantka posiada duże umiejętności stosowania złożonych i trudnych procedur metodycznych, niezbędnych do badania genomu roślinnego na poziomie molekularnym. Posiada również szeroką wiedzę genetyczną i hodowlaną. Uwagi pojawiające się przy omawianiu poszczególnych rozdziałów pracy, w żaden sposób nie umniejszają jej wartości.

Uwagi i pytania, które zawarłem w niniejszej recenzji, nie umniejszają w żaden sposób obiektywnej wartości pracy, którą uważam za wysoką, oraz mojej pozytywnej oceny. Konkludując stwierdzam, że przedłożona do recenzji praca doktorska pt. „Piramidyzacja genów odporności w pszenicy jarej” stanowi wartościowe oryginalne opracowanie naukowe i w pełni spełnia wszystkie wymogi określone w art. 190 ust. 3 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. 2021, poz. 478) stawiane pracom doktorskim i wobec tego wnoszę do Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr. inż. Ady Dorczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, 24.10.2023



Prof. UPP dr hab. Jan Bocianowski