

dr hab. Lidia Skuza, prof. US
Instytut Biologii
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Uniwersytet Szczeciński
ul. Wąska 13
71-415 Szczecin

Szczecin, 07.09.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Cieplak

pt. „Analiza wirulencji i charakterystyka populacji *Blumeria graminis* f. sp. *avenae* na terenie Polski w latach 2014-2020”

wykonanej w Instytucie Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin

Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie,

pod kierunkiem promotora dr hab. Sylwii Okoń, profesor uczelni

Zwiększenie odporności odmian uprawnych na choroby grzybowe jest obecnie jednym z podstawowych problemów hodowli roślin zbożowych. Jedną z najpoważniejszych chorób dotykających uprawy owsa jest mączniak prawdziwy, spowodowany przez pasożytniczy grzyb *Blumeria graminis* DC. f. sp. *avenae* Em. Marchal. Ta choroba jest szeroko rozpowszechniona w Europie i Ameryce Północnej, a także rośnie jako zagrożenie w obszarach Europy Wschodniej, w tym w Polsce. Wywołuje ona straty w plonie ziarna owsa, które wahają się od 5 do 10%, a w warunkach sprzyjających infekcji mogą nawet sięgnąć 40%. Aby zminimalizować negatywne skutki tej choroby oraz innych grzybowych problemów w produkcji roślin, możliwe jest wykorzystanie różnych zabiegów agrotechnicznych, np. właściwie ułożone płodozmiany, odpowiedni dobór gatunków i odmian do uprawy, uprawa zasiewów mieszanych i stosowanie mieszanin odmian o różnym stopniu odporności oraz poprzez integrowane systemy uprawy i ochrony roślin. Niemniej jednak, najefektywniejszym podejściem w kontroli i zmniejszaniu negatywnych konsekwencji ataku mączniaka prawdziwego jest wprowadzenie do uprawy odmian z genetycznie uwarunkowaną odpornością.

Istotną cechą epidemiologiczną mączniaka prawdziwego jest jego zdolność do infekowania roślin w różnorodnych warunkach temperatury i wilgotności. Duża zmienność genetyczna i zdolność do generowania nowych form poprzez mutacje i rekombinacje DNA sprawiają, że grzyb ten bardzo szybko adaptuje się do nowych warunków.

Aby osiągnąć skuteczną hodowlę odpornościową, niezbędne jest przeprowadzanie regularnych badań nad strukturą i dynamiką zmian frekwencji wirulencji patogenu. Dzięki tym badaniom możliwe jest prognozowanie skuteczności źródeł odporności używanych w programach hodowlanych i odmianach uprawianych. Opracowanie odmian charakteryzujących się trwałą, stabilną i efektywną odpornością w zróżnicowanych warunkach środowiskowych to proces wymagający wielu wysiłków i zaangażowania.

Wobec powyższego uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Magdaleny Cieplak podejmuje bardzo ważną i aktualną problematykę badawczą. Tego rodzaju badania są obecnie szczególnie istotne ze względu na rosnącą rolę uprawy owsa w świecie. W przypadku owsa, rzadko sięga się po chemiczne środki zwalczania chorób, dlatego też kluczowym aspektem w jego hodowli jest rozwijanie odporności, zwłaszcza w kontekście chorób wywoływanych przez grzyby, w tym mączniaka prawdziwego.

Rozprawę doktorską stanowi zbiór trzech powiązanych tematycznie artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych zgodnie z art. 13.2 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz. U. z dnia 27 września 2017 poz. 1789, o łącznym współczynniku oddziaływania IF 10,928 i liczbie punktów ministerialnych MEiN 240. W dwóch pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Wkład autorski Doktorantki w powstanie publikacji nie budzi wątpliwości. W trakcie opracowywania manuskryptów brała udział w tworzeniu koncepcji badań, wykonaniu analiz, opracowaniu wyników badań i napisaniu manuskryptów oraz ustosunkowaniu się do uwag recenzentów. Układ przedłożonej do recenzji rozprawy nie budzi zastrzeżeń pod względem formalnym.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy:

1. Cieplak M.; Terlecka, K.; Ociepa, T.; Zimowska, B.; Okoń, S. (2021) Virulence structure of *Blumeria graminis* f. sp. *avenae* populations in Poland across 2014– 2015. *Plant Pathology Journal*, 37, 115–123, <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.10.2020.0193>. IF=2,321, MNiSW=70
2. Okoń, S.; Cieplak, M.; Kuzdraliński, A.; Ociepa, T. (2021). New pathotype nomenclature for better characterization the virulence and diversity of *Blumeria graminis* f. sp. *avenae* populations. *Agronomy*, 11, 1852. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091852> IF=3,949, MNiSW=100
3. Cieplak, M.; Nucia, A.; Ociepa, T.; Okoń, S. (2022). Virulence Structure and Genetic Diversity of *Blumeria graminis* f. sp. *avenae* from different Regions of Europe. *Plants*, 11, 1358. <https://doi.org/10.3390/plants11101358> IF=4,658; MNiSW=70

W pierwszej publikacji Autorzy skupili się na istotnym temacie określenia struktury zjadliwości populacji mączniaka prawdziwego owsa w Polsce, co jest kluczowe dla zrozumienia i kontroli tej choroby. Autorzy, na podstawie próbek zebranych w dwóch kolejnych latach, przeprowadzili badania, których celem było identyfikowanie genów odporności na mączniaka oraz analiza zmienności w zjadliwości izolatów.

Warto zwrócić uwagę na staranność przeprowadzenia badań, które obejmowały próbki z 18 lokalizacji w Polsce. Wykorzystanie dziewięciu linii i odmian owsa z różnymi genami odporności na mączniaka było odpowiednią metodą do oceny zjadliwości izolatów.

Wyniki uzyskane w badaniach są interesujące i ważne z punktu widzenia zarówno nauki, jak i praktyki rolniczej. Stwierdzenie, że znaczna część izolatów *Bga* w Polsce jest zjadliwa w stosunku do wybranych genów odporności, ma istotne implikacje dla strategii ochrony upraw. Wskazanie, że niektóre geny (*Pm4*, *Pm5*, *Pm2*, *Pm7*) wykazują odporność na wszystkie izolaty, może stanowić cenne informacje dla hodowców, pomagając w selekcji i wyborze odmian owsa odpornych na mączniaka prawdziwego.

Autorzy stwierdzili małe zróżnicowanie populacji *Bga* w Polsce, mimo że zostały pobrane z różnych miejsc w kraju oraz niewielką dynamikę zmian populacji *Bga*.

Podsumowując, praca jest cennym źródłem informacji na temat zjadliwości populacji mączniaka prawdziwego owsa w Polsce. Wyniki stanowią ważny wkład w badania nad odpornością roślin na tę chorobę i mogą znaleźć zastosowanie praktyczne w ochronie upraw.

Kolejna praca stanowi kontynuację badań prezentowanych w poprzednim artykule. Autorzy potwierdzili dynamiczny charakter populacji patogenów, a regularne śledzenie tych zmian pozwala na skuteczne ocenianie efektywności genów odporności wykorzystywanych w programach hodowlanych. Co więcej, nadzorowanie zmian zjadliwości i różnorodności populacji dostarcza istotnych informacji, które mogą być wykorzystane do piramidyzacji genów. To podejście stanowi klucz do budowania trwałej i wszechstronnej odporności roślin. Jednym z kluczowych elementów pracy jest wprowadzenie ustandaryzowanego kodu literowego do charakteryzowania patotypów *B. graminis* f. sp. *avenae*, co stanowi innowacyjne podejście. Zastosowanie tego kodu pozwala na precyzyjne opisanie różnych typów patogenów i ich cech związanych z interakcją z rośliną żywiciela. Wykorzystanie zestawu 14 różnych genotypów owsa stanowiło solidną podstawę do analizy.

Przeprowadzona analiza 160 izolatów *Bga* zebranych w latach 2016–2019 z 4 różnych lokalizacji w Polsce wykazała, że patotyp TBBB stanowił najliczniejszą grupę, reprezentującą aż 30% wszystkich badanych izolatów. Patotyp ten był obecny we wszystkich analizowanych populacjach.

Podsumowując, ta praca stanowi znaczący krok w ustandaryzowaniu charakteryzacji patotypów *B. graminis* f. sp. *avenae* i dostarcza ważnych informacji na temat występujących patotypów w populacjach patogenu w Polsce.

Ostatnia praca koncentruje się na analizie różnorodności i zjadliwości populacji patogenu *Blumeria graminis* f. sp. *avenae* w różnych krajach Europy. Autorzy użyli 80 jednozarodnikowych izolatów z Polski, Niemiec, Finlandii, Czech i Irlandii. W badaniach wykorzystano markery molekularne ISSR i SCoT do oceny różnorodności genetycznej.

Wyniki badań są interesujące i wnoszą istotny wkład w zrozumienie struktury i dynamiki populacji tego patogenu. Autorzy wykazali, że istnieją różnice w zjadliwości izolatów *Bga* z różnych krajów, co sugeruje, że patogen może wykazywać dostosowanie do lokalnych warunków. Analiza molekularna przy użyciu markerów ISSR i SCoT była skuteczna w ocenie różnorodności genetycznej, z wyższymi wartościami PIC i RP dla markerów ISSR.

Interesujący jest również fakt, że analiza klastrow przy użyciu UPMGA i PCoA podzieliła izolaty na grupy zgodne z ich pochodzeniem geograficznym, co oznacza, że poziom zróżnicowania genetycznego patogenu nie zależy od poziomu zjadliwości, ale od jego pochodzenia.

Podsumowując, praca ta wnosi ważne informacje na temat różnorodności genetycznej i zjadliwości patogenu *B. graminis* f. sp. *avenae* w różnych regionach Europy. Niski poziom zróżnicowania genetycznego izolatów może sugerować, że tempo ewolucji tego patogenu jest stosunkowo wolne, co ma istotne implikacje dla jego potencjału ewolucyjnego. Praca ta stanowi solidną podstawę dla przyszłych badań nad strukturą populacji i dynamiką tego patogenu.

Do wykazu publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej Autorka dołączyła wprowadzenie (26 stron), zawierające wstęp, hipotezę i cel pracy, materiał i metody, omówienie wyników, stwierdzenia i wnioski oraz piśmiennictwo (92 pozycje). W opracowaniu uwzględniono także streszczenia w języku polskim i angielskim oraz oświadczenia współautorów.

Po zwięzłym, jednak zawierającym najważniejsze informacje dotyczące badanych zagadnień oraz uzasadnienie podjęcia badań wstępie, Autorka przedstawia hipotezę badawczą i jasno sprecyzowany cel pracy. Zamierzony cel badawczy Autorka osiągnęła przez określenie wirulencji populacji *B. graminis* f. sp. *avenae* w latach 2014-2020, ocenę struktury oraz dynamiki zmian zachodzących w populacji mączniaka prawdziwego oraz ocenę zróżnicowania genetycznego badanych populacji grzyba.

Materiał badawczy jest interesujący, ponieważ uzyskane wyniki wskazują na adaptację uzyskanej odporności do lokalnych uwarunkowań, obejmujących nie tylko aspekty klimatyczne i glebowe, ale także różnice w populacjach patogenu obecnych w Polsce. W testach fizjologicznych Doktorantka wykorzystwała wyselekcjonowane jednozarodnikowe izolaty *B. graminis* f. sp. *avenae*, które wykazywały różny poziom wirulencji względem zestawu linii referencyjnych ze zdefiniowanymi genami odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw. Pozyskano je w latach 2014-2020 z różnych części Polski. Stworzenie takiej kolekcji jest zadaniem niezwykle wymagającym i pracochłonnym, głównie z powodu specyficznego charakteru *B. graminis* f. sp. *avenae*, który jako pasożyt bezwzględny potrzebuje żywych roślin owsa do swojego rozwoju.

Przyjęta metodyka badań jest rzetelna i kompleksowa. Na każdym etapie eksperymentu metody zostały poprawnie dobrane, analizy przeprowadzone we właściwy sposób. Doktorantka z sukcesem wykorzystwała tradycyjne metody hodowli roślin, stosując testy żywiciel-patogen, w połączeniu z technikami molekularnymi. Jej badania wpisują się zarówno w obszar badań naukowych o charakterze podstawowym, jak i w te, które mają praktyczne zastosowanie w hodowli nowych odmian roślin uprawnych, które są odporne na infekcje patogenów.

W rozdziale „Omówienie wyników” Autorka opisała rezultaty badań, które zostały opublikowane w artykułach zawartych w dysertacji, odnosząc się do osiągnięć innych badaczy. Ta część pracy, napisana w sposób przejrzysty i czytelny, została podzielona na dwie tematyczne sekcje, które wzajemnie się uzupełniają.

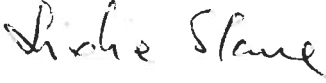
Stwierdzenia i wnioski zostały sformułowane w dziesięciu punktach. Są rzeczowe i odpowiadają celowi badań. Zakres i dobór cytowanej literatury świadczy o gruntownym przestudiowaniu przez Autorkę opisywanej tematyki.

Praca została napisana starannie, zredagowana w sposób bardzo przejrzysty, co znacząco ułatwia jej odbiór. W tekście pracy występuje tylko kilka drobnych błędów edytorskich. Świadczy to dodatkowo o bardzo dokładnym przygotowaniu manuskryptu.

Wniosek końcowy

Recenzując rozprawę doktorską oraz artykuły wchodzące w jej skład, mogę stwierdzić, że Pani mgr inż. Magdalena Cieplak przedstawiła bardzo ciekawy i jednocześnie trudny temat. Ambitny cel został osiągnięty z zastosowaniem nowoczesnych metod badawczych, a Autorka wykorzystała swoją wiedzę, aby dokładnie przeanalizować dane. Praca Pani mgr inż. Magdaleny Cieplak stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego i wnosi cenny wkład w rozwój nauk rolniczych.

Podsumowując ocenę stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Cieplak spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie Pani mgr inż. Magdaleny Cieplak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


/Lidia Skuza/