

Prof. dr hab. Agnieszka Pszczółkowska

Olsztyn, dnia 12.09.2023 r.

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Katedra Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej

ul. Plac Łódzki 5, 10-727 Olsztyn

## RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr. inż. Magdaleny Cieplak**

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

**wykonanej pod kierunkiem dr hab. Sylwii Okoń, prof. uczelni**

Owies zwyczajny (*Avena sativa* L.) zaliczany jest do grupy sześciu najchętniej uprawianych gatunków zbóż na świecie i stanowi wysokiej jakości surowiec paszowy dla różnych grup zwierząt gospodarskich. Ponadto ze względu na skład odżywczy oraz wielofunkcyjność wybranych związków bioaktywnych cieszy się coraz większym zainteresowaniem w branży przemysłu spożywczego ze względu na rosnącą świadomość społeczeństwa w zakresie zdrowego żywienia. Ziarno owsa jest bowiem cennym źródłem węglowodanów, błonnika, pełnowartościowego białka, lipidów, związków fenolowych, witamin i minerałów. W związku z tym jest powszechnym składnikiem diety funkcjonalnej i służy między innymi do produkcji płatków, kaszy, czy otrąb. Jego walory odżywcze oraz prozdrowotne są również szeroko wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym. Owies zwyczajny podobnie jak inne gatunki zbóż podczas wegetacji podlega działaniu różnych czynników abiotycznych i biotycznych, które mają wpływ na jakość oraz ilość plonu ziarna. Spośród czynników biotycznych kluczowe znaczenie mają choroby pochodzenia grzybowego. Wśród nich istotne znaczenie ma mączniak prawdziwy zbóż i traw powodowany przez *Blumeria graminis*. Gatunek ten wyewoluował w osiem odrębnych form specjalnych przystosowanych do interakcji kompatybilnej ze ściśle określonym gatunkiem żywiciela, w przypadku owsa czynnikiem infekcyjnym jest forma specjalna *Blumeria graminis* f. sp. *avenae*. Zmiany klimatu i ekstremalne warunki pogodowe ułatwiają rozprzestrzenianie się zarodników *B. graminis* na duże odległości, co również może przyczyniać się do wzrostu

patogeniczności poprzez rekombinacje różnych form w procesie rozmnażania płciowego. Interakcje patogen-roślina to skomplikowane i dynamiczne procesy, prowadzące do osiągnięcia długotrwałej i efektywnej odporności. Do osiągnięcia tego celu konieczna jest znajomość częstości zjadliwości, struktury populacji i zróżnicowania genetycznego patogenów. Zmiany chorobotwórczości populacji patogenów oraz szybkość pojawiania się nowych ras determinują możliwość wykorzystania genów odporności w hodowli roślin. Zastosowanie markerów molekularnych opartych na analizach DNA odgrywają kluczową rolę w charakterystyce zróżnicowania genetycznego patogenów roślin. W literaturze naukowej nie ma doniesień dotyczących analizy zróżnicowania genetycznego *B. graminis* f. sp. *avenae* a jedynie dostępnych jest niewiele danych dotyczących charakterystyki populacji *B.graminis* f. sp. *avenae* opartej na analizie wirulencji.

W tym kontekście problematyka badawcza jest interesująca i cenna z poznawczego oraz utylitarnego punktu widzenia dla hodowli roślin oraz współczesnego rolnictwa.

Oceniana rozprawa doktorska mgr inż. Magdaleny Cieplak na temat: „Analiza wirulencji i charakterystyka populacji *Blumeria graminis* f.sp *avenae* na terenie Polski w latach 2014-2020” stanowi zbiór trzech tematycznie powiązanych publikacji naukowych, opublikowanych w języku angielskim w renomowanych czasopismach międzynarodowych, których łączny IF wynosi 10,928 a liczba punktów wg. MEiN - 240. Dwie prace ukazały się w 2021 roku w czasopismach *Plant Pathology Journal* (IF – 2,321; 70 pkt MEiN) oraz *Agronomy* (IF 3,949; 100 pkt. MEiN) i jedna praca w 2022 roku w *Plants* (IF – 4,658; 70 pkt MEiN). Wszystkie publikacje są współautorskie. W pierwszej i trzeciej pracy Doktorantka jest pierwszym autorem, natomiast w drugiej – drugim autorem. Indywidualny wkład mgr inż. Magdaleny Cieplak kształtuje się na poziomie 40–50%, który obejmował udział w opracowaniu koncepcji badań, przygotowaniu i wykonaniu testów żywiciel-patogen, ocenie porażenia roślin (prowadzeniu analiz molekularnych (trzecia praca) oraz pisaniu manuskryptów. W mojej ocenie przedstawione przez Doktorantkę formy aktywności związane z powstaniem cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską są znaczące i świadczą o umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych (zgodnie z art. 187 pkt1. Ustawy (Dz. U. 2023 poz. 742 ze zm.).

Tytuł pracy został sformułowany poprawnie w stosunku do wybranej tematyki publikacji naukowych stanowiących rozprawę doktorską.

Przedłożona do oceny rozprawa liczy 27 stron maszynopisu. Do rozprawy dołączone zostały trzy bazowe oryginalne artykuły naukowe oraz oświadczenie współautorów prac. W rozprawie wyróżniono 7 głównych rozdziałów poprzedzonych streszczeniem w języku polskim i angielskim: Wstęp; Hipoteza i Cel pracy; Materiał i metody; Omówienie wyników; Stwierdzenia i Wnioski; Bibliografia oraz Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej z oświadczeniami o współautorstwie:

- P1. 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
- P2. 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
- P3. 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 mojej opinii z formalnego punktu widzenia rozprawa spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim.

Rozprawa rozpoczyna się streszczeniem w j. polskim i angielskim, następnie we wstępie Autorka wprowadza czytelnika w aspekty wykorzystania owsa zwyczajnego i w dalszej części skupia się na mączniaku prawdziwym zbóż i traw - chorobie powodowanej przez *Blumeria graminis* f. sp. *avenae*, która to jest przedmiotem Jej pracy badawczej. Pani mgr inż. Magdalena Cieplak opisuje cykl rozwojowy patogena, objawy chorobowe, skutki porażenia oraz możliwości ograniczenia rozwoju grzyba. Następnie zwraca uwagę na zmiany zachodzące w populacji patogena stanowiące integralną część prac hodowlanych mających na celu poprawę odporności roślin uprawnych, a także zwraca uwagę na dynamiki zmian zachodzących w populacji, badanie rozprzestrzeniania się patogenów między różnymi regionami oraz określenie ich zróżnicowania genetycznego a także odnosi się do markerów opartych na analizie DNA, które odgrywają kluczową rolę w charakterystyce zróżnicowania

genetycznego patogenów roślin. W następnym rozdziale Kandydatka zapoznaje czytelnika z hipotezą i celem badań. Celem ocenianej pracy doktorskiej była charakterystyka zmian zachodzących w populacji *B. graminis* f. sp. *avenae* występującej w Polsce pozwalająca na określenie możliwości wykorzystania genów odporności w programach hodowlanych. Autorka podaje, że cel ten został osiągnięty poprzez określenie wirulencji oraz ocenę zróżnicowania genetycznego populacji *B. graminis* f. sp. *avenae*. Kolejny rozdział „Materiał i metody” Autorka podzieliła na trzy podrozdziały i wskazała, że obiektem badań były populacje *B. graminis* f. sp. *avenae* skolekcjonowane w latach 2014-2020 z liści owsa zwyczajnego z objawami mączniaka prawdziwego zbierane losowo z pól należących do gospodarstw prywatnych oraz firm zajmujących się hodowlą roślin zlokalizowanych w różnych regionach Polski. W mojej opinii Autorka w tej części opisu powinna zamieścić mapę identyfikującą miejsca pobierania prób. Taka informacja znajduje się w załączonych publikacjach, jednak w tym miejscu ułatwiłoby to czytelnikowi analizę założeń metodycznych oraz wyników. Następnie zostały opisane przeprowadzone doświadczenia i analizy obejmujące: testy żywiciel-patogen; analizy wirulencji; analizy zróżnicowania genetycznego w oparciu o markery ISSR i SCoT. Sądzę, że w tym miejscu Kandydatka powinna zamieścić bardziej szczegółowe informacje dotyczące określenia liczby patotypów zgodnie z klasyfikacją Gilmour’a oraz nową nomenklaturę patotypów opisaną w pracy P2. Istotna w przypadku prezentacji pracy P3 byłaby także informacja o wykorzystaniu w badaniach izolatów *B. graminis* f. sp. *avenae* pochodzących z innych krajów, tym bardziej, że Autorka odnosi się do tej kwestii w opisie wyników.

W części „Omówienie wyników badań” Autorka umiejętnie przekazuje uzyskane rezultaty oraz konfrontuje wyniki badań z literaturą. W mojej opinii rozdział ten powinien mieć inny tytuł ponieważ oprócz wyników badań własnych zawiera także dyskusję z literaturą przedmiotu. Rozdział ten został podzielony na dwa podrozdziały. Pierwszy zatytułowany „Analiza wirulencji” dodatkowo podzielony na cztery podrozdziały drugiego rzędu. W pierwszym podrozdziale „Częstość wirulencji” Autorka wykazała, że analizowana populacja *B. graminis* f. sp. *avenae* zebrana w Polsce w latach 2014-2020 charakteryzowała się zróżnicowaną wirulencją w stosunku do opisanych do tej pory genów odporności. W każdym roku badań stwierdzono wysoki poziom zjadliwości wobec form z genami *Pm1*, *Pm3*, *Pm6*. Częstość ta mieściła się w zakresie od 62,5 do 100% i świadczyła o całkowitym przełamaniu odporności warunkowanej tymi genami. Częstość wirulencji wobec odmiany Rollo posiadającej geny *Pm3+Pm8* była także

na wysokim poziomie i osiągnęła wartość 60-100%. Jedynie w roku 2020 wykazano niższy poziom wirulencji względem tej formy, który wynosił 18%. Niską częstość wirulencji wykazano w stosunku do linii z genami *Pm9*, *Pm10*, *Pm11* i *Pm12*. Natomiast nie odnotowano izolatów *B. graminis* f. sp. *avenae* wirulentnych wobec genotypu posiadającego gen *Pm4*. Podobnie w przypadku genu *Pm5* Autorka wykazała bardzo niską częstość wirulencji sięgającą 3% jedynie w 2020 roku. W 2019 roku zidentyfikowała pojedyncze izolaty, które zaczęły przełamywać odporność warunkowaną genem *Pm2*, a częstość wirulencji wobec tego genu wyniosła 20%. W oparciu o uzyskane dane potwierdziła, że geny *Pm2*, *Pm4* oraz *Pm5* są efektywnymi źródłami odporności od wielu lat w różnych regionach geograficznych Polski. Również odporność warunkowana genem *Pm7*, który warunkował wysoki poziom odporności u linii APR122 w 2020 roku a częstość wirulencji była na poziomie 8%. Natomiast w odniesieniu do odmiany Canyon, częstość wirulencji w latach 2014 – 2019 utrzymywała się w zakresie 2,2-12,5% a w 2020 roku odnotowano wyższy poziom wirulencji względem tego genu wynoszący 83%. Autorka wykazała, że obiecującym źródłem odporności na mączniaka prawdziwego u owsa może być genotyp *A. strigosa*. Zaprezentowana w tym podrozdziale tabela 3 wymaga drobnej korekty: w pierwszej kolumnie podana jest odmiana a powinna być uwzględnione także linie referencyjne. W drugim podrozdziale „Kompleksowość wirulencji” Kandydatka wykazała, że izolaty zebrane w 2014 i 2015 roku najczęściej przełamywały odporność czterech spośród dziewięciu analizowanych genów (*Pm1*, *Pm3*, *Pm6* oraz *Pm3+Pm8*). Pozostałe izolaty charakteryzowały się różną kompleksowością, jednak ich liczba była bardzo mała. Podczas całego okresu zrealizowanych badań nie stwierdzono izolatów zdolnych do przełamania odporności wszystkich genów jednocześnie. W kolejnym podrozdziale „Różnicowanie populacji na podstawie wirulencji” mgr inż. Magdalena Cieplak bazując na analizie wirulencji, określiła różnicowanie populacji *B. graminis* f. sp. *avenae* wykorzystując następujące parametry: indeks Nei (Hs), indeks Simpsona (Si), indeks Shannona (Sh) oraz indeks Kosmana (KWm). W oparciu o uzyskane dane wykazała niewielki wzrost wskaźników w latach badań, co wskazuje na zmiany zachodzące w strukturze populacji badanego gatunku. W czwartym podrozdziale „Liczba patotypów” określono liczbę patotypów populacji *B. graminis* f. sp. *avenae* w oparciu o profil porażania poszczególnych linii kontrolnych. Izolaty skolekcjonowane w latach 2014- 2015 zgrupowano w 9 patotypów zgodnie z kodem Gilmour’a. W pierwszym roku zidentyfikowano 4, natomiast w drugim roku populacja była reprezentowana przez 5 patotypów. Największa liczba izolatów (65%) została

sklasyfikowana jako patotyp 544, który występował z najwyższą częstotliwością w roku 2014 (75,6%) oraz 2015 (54,4%) i był wirulentny wobec genów *Pm1*, *Pm3*, *Pm6* i *Pm3+8*. Liczba patotypów *B. graminis* f. sp. *avenae* w latach 2016-2020 została określona za pomocą nowej nomenklatury. W latach 2016-2019 zidentyfikowano łącznie 46 patotypów. Patotyp TBBB, występujący we wszystkich analizowanych populacjach, był najliczniejszy i stanowił 30% izolatów i przełamał odporność warunkowaną następującymi genami: *Pm1*, *Pm3*, *Pm6* i *Pm8*.

Drugi główny podrozdział w rozdziale „Omówienie wyników” został zatytułowany „Analiza zróżnicowania genetycznego w oparciu o markery ISSR i SCoT”. Badania dotyczące tego zakresu zostały opublikowane w pracy P3 i dotyczą zróżnicowania genetycznego populacji *B. graminis* f. sp. *avenae*. W tym miejscu należy podkreślić, że podjęte przez Autorkę w pracy doktorskiej badania są pierwszą próbą poznania struktury genetycznej populacji patogena *B. graminis* f. sp. *avenae* w Polsce i na świecie. Badania potwierdziły, że systemy markerowe ISSR i SCoT są dobrymi narzędziami do analizy struktury genetycznej populacji *B. graminis* f. sp. *avenae* i wskazały, że populacja patogena pochodząca z Polski była bardzo zróżnicowana. Analiza danych oparta na polimorfizmie markerów ISSR i SCoT wykazała, że mimo wysokiego poziomu zróżnicowania, populacja *B. graminis* f. sp. *avenae* pochodząca z Polski tworzy jedną grupę skupień w odróżnieniu od izolatów pochodzących z innych krajów Europy, co pokazano w formie graficznej na dendrogramie wykonanym metodą UPGMA oraz w analizie PCoA.

Opisane wyniki nie budzą zastrzeżeń i są umiejętnie skonfrontowane z danymi i opiniami innych autorów, chociaż z punktu widzenia recenzent czuję pewien niedosyt i sądzę, że opis wyników mogłyby być bardziej rozbudowany, zwłaszcza część dotycząca analizy wirulencji.

W kolejnym rozdziale mgr inż. Magdalena Cieplak sformułowała 12 wniosków i stwierdzeń wynikających z przeprowadzonych wyników badań. Zawarte w tym rozdziale wnioski w większości zostały sformułowane poprawnie, chociaż w efekcie rozdział ten można uznać za podsumowanie niż wnioski, ponieważ wnioski w tej formie zaprezentowane mają charakter opisowy.

W ostatnim rozdziale Autorka przedstawiła bibliografię wykorzystaną do przygotowania dysertacji, która liczy 92 pozycje literatury, co świadczy o dobrej orientacji Doktorantki

w obszarze poruszanych tematów. Głównie są to pozycje anglojęzyczne cytowane w sposób właściwy.

Przedstawiona do recenzji praca oparta na cyklu trzech monotematycznych publikacji pod wspólnym tytułem „Analiza wirulencji i charakterystyka populacji *Blumeria graminis* f. sp. *avenae* na terenie Polski w latach 2014-2020” posiada walory poznawcze i użytkowe, charakteryzuje się ogromem wniesionej pracy, została poprawnie przygotowana. Artykuły naukowe wchodzące w skład pracy doktorskiej nie budzą zastrzeżeń. Wyniki zaprezentowane w tych artykułach podlegały wcześniej ocenie przez recenzentów i wydawców, w związku z czym nie czuje się zobowiązana aby dodatkowo je oceniać.

Podsumowując stwierdzam, że Doktorantka przygotowując ocenianą pracę doktorską wykazała się wysokim poziomem wiedzy, umiejętności w pracy naukowej oraz opracowaniu i prezentacji wyników badań, co zaowocowało powstaniem monotematycznego cyklu publikacji naukowych. Biorąc pod uwagę walory naukowe rozprawy stwierdzam, że jest ona świadectwem dojrzałości naukowej Kandydatki do stopnia doktora.

#### **Wniosek końcowy**

**Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Magdaleny Cieplak pt. „Analiza wirulencji i charakterystyka populacji *Blumeria graminis* f. sp. *avenae* na terenie Polski w latach 2014-2020” spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim z dziedziny nauk rolniczych, dyscyplina rolnictwo i ogrodnictwo, na podstawie art. 187 ust. 1 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742). Stawiam zatem wniosek do Rady Naukowej Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Magdaleny Cieplak do dalszych etapów postępowania doktorskiego.**

Recenzent



Agnieszka Pszczołkowska