Prof. dr hab. Henryk Bujak
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Katedra Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Tomasza Ociepy pt. „Identyfikacja i charakterystyka nowego genu odporności *Pm11* na mączniaka prawdziwego owsa pochodzącego z *Avena sterilis* oraz opracowanie markera DNA dla tego genu"

Praca została wykonana w Instytucie Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod promotorstwem Pani dr hab. Sylwii Okoń, profesora uczelni.

Owies zwyczajny jest bardzo cenną rośliną uprawną, która ogranicza występowanie chorób przenoszonych przez glebę i resztki pożniwne dzięki wytwarzaniu specyficznych substancji fungistatycznych, dlatego może być stosowany jako tzw. przerywnik w płodozmianach z dużym udziałem zbóż. Posiada także wysokie walory odżywcze oraz profilaktyczno-dietetyczne, a jego ziarno często stosowane jest do produkcji żywności i walorach prozdrowotnych. Najczęściej jednak owies wykorzystywany jest na jako paszowa, chociaż może być stosowany także jako paliwo w instalacjach grzewczych.

Owies postrzegany jest jako jeden z najodporniejszych gatunków zbóż na wiele chorób, jednak zdarzające się czasem silne porażenie przez patogeny może znacząco obniżyć wielkość i jakość plonu. Jedną z najgroźniejszych chorób owsa jest mączniak prawdziwy powodowany przez grzyb pasożytniczy *Blumeria graminis* DC. f. sp. *avenae* EM. Marchal. Jest to pasożyt obligatoryjny infekujący głównie liście, co zmniejsza ich powierzchnię asymilacyjną oraz zaburza transport produktów fotosyntezy do rozwijających się ziarniaków. W latach sprzyjających porażeniu i rozwojowi mącznika prawdziwego straty plonu owsa mogą przekraczać nawet 30%.

Mączniak prawdziwy pojawia się w Polce każdego roku w niewielkiej skali, a jego nasilenie zależy od warunków pogodowych. Zwykle do ograniczenia strat powodowanych przez choroby wywoływane przez grzyby stosuje się odpowiednie zabiegi agrotechniczne w tym integrowane systemy uprawy i ochrony roślin. Jednak jednym z najbardziej efektywnych sposobów ochrony roślin uprawnych jest hodowla odmian odpornych, w tym odmian owsa z odpornością na porażenie przez *Blumeria graminis* f. sp. *avenae*. W hodowli odpornościowej

ważne jest poznanie genetycznych mechanizmów odporności oraz poszukiwanie, identyfikacja i charakterystyka nowych efektywnych genów odporności. Istotnym elementem przyspieszenia prac nad nowymi bardziej odpornymi odmianami jest opracowywanie markerów molekularnych pozwalających na szybką i skuteczną identyfikację genów odporności w materiałach hodowlanych.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Tomasza Ociepy stanowi monotematyczny cykl czterech publikacji, w których przedstawiono identyfikację i charakterystykę nowego efektywnego genu odporności na mączniaka prawdziwego u owsa nazwanego *Pm11* oraz opracowanie dla tego genu markera molekularnego, który będzie mógł być w przyszłości wykorzystywany w hodowli odpornościowej do selekcji wspomaganej markerami (MAS). W skład pracy wchodzą następujące publikacje:

1/ Okoń S, Paczos-Grzęda E, Ociepa T, Koroluk A, Sowa S, Kowalczyk K, Chrząstek M (2016) *Avena sterilis* L. genotypes as a potential source of resistance to oat powdery mildew; opublikowana w Plant Disease,

2/ Okoń S, Ociepa T (2018) Effectiveness of new sources of resistance against oat powdery mildew identified in *A. sterilis*; opublikowana w Journal of Plant Diseases and Protection,

3/ Ociepa T (2019) The oat gene pools – review about the use of wild species in improving cultivated oat; opublikowana w Journal of Central European Agriculture,

4/ Ociepa T, Okoń S, Nucia A, Leśniowska-Nowak J, Paczos-Grzęda E, Bisaga M (2019) Molecular identification and chromosomal localization of new powdery mildew resistance gene *Pm11* in oat; opublikowana w Theoretical and Applied Genetnetics.

Publikacje zostały wydane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, co świadczy o ich dużym znaczeniu i potencjalnie dużym zasięgu. Suma punktów MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 175, a współczynnik oddziaływania IF= 7,740. Trzy z nich to publikacje wieloautorskie, w których udział Doktoranta wynosi od 10 do 60% (zgodnie z oświadczeniami współautorów). Natomiast czwarta z prac jest samodzielną publikacją, w której Doktorant przedstawił informacje na temat wykorzystania różnych dzikich pul genowych owsa do ulepszania owsa zwyczajnego. Publikację tą można potraktować jako swoisty przegląd literatury w ocenianej pracy doktorskiej.

Pierwsza publikacja dostarcza informacji na temat odporności na mączniaka prawdziwego zgromadzonych w kolekcji genotypów *Avena sterilis*. W pierwszym etapie badań wykorzystano zestaw 6-ciu jednozarodnikowych izolatów mączniaka prawdziwego o różnym stopniu wirulencji, co pozwoliło na zidentyfikowanie 10 genotypów o wysokim poziomie odporności. W dalszej kolejności wyselekcjonowaną grupę genotypów testowano

zestawem 13-tu jednozarodnikowych izolatów mączniaka prawdziwego, co umożliwiło wybór czterech z nich, które charakteryzowały się całkowitą odpornością na wszystkie użyte izolaty, a ponadto wykazały całkowitą odporność polową w stadium rośliny dorosłej.

W drugiej części pracy, druga publikacja, przeprowadzono ocenę efektywności odporności, wcześniej zidentyfikowanych, nowych źródeł odporności pochodzących z *Avena sterilis* z wykorzystaniem 50 izolatów mączniaka prawdziwego pochodzących z różnych lat i rejonów Polski. Najwyższą efektywność zaobserwowano dla źródeł odporności zidentyfikowanych w dwóch genotypach CN67383 i CN113536. W badaniach wykorzystano także linie i odmiany kontrolne owsa zwyczajnego ze zidentyfikowanymi genami odporności na mączniaka prawdziwego, co pozwoliło na porównanie uzyskanych wzorów porażenia obiektów kontrolnych z wszystkimi testowanymi genotypami *Avena sterilis*. Uzyskanie odmiennych od odmian i linii kontrolnych wzory prażenia dla obu genotypów *A. sterilis* pozwoliło na postawienie hipotezy o obecności w tych genotypach nowych genów odporności na mączniaka prawdziwego.

Trzecia publikacja stanowi przegląd danych literaturowych dotyczących wykorzystania dzikich form owsa w ulepszaniu owsa zwyczajnego. Krzyżowania oddalone umożliwiły efektywne wprowadzenie do form uprawnych genów odporności na mączniaka prawdziwego, rdzę źdźbłową i koronową, nicienie, ale także genów zwiększających plonowanie, zawartość biała, tłuszczów i β-glukanów w ziarnie oraz zimotrwałość. Jak już wcześniej wspominałem praca ta stanowi dobry przegląd literatury w klasycznej rozprawie doktorskiej.

Konsekwentnie prowadzone badania pozwoliły na identyfikację i określenie sposobu dziedziczenia nowego genu odporności na mączniaka prawdziwego u owsa oraz opracowanie markerów molekularnych umożliwiających wykrycie tego genu w materiałach hodowlanych. Wyniki tych badań zostały opublikowane w czwartej pracy stanowiącej pracę doktorską. Analiza segregujących populacji pokoleń F_2 i F_3 mieszańca Sam (wrażliwa) x CN113536 (*A. sterilis* – odporna) pozwoliła na stwierdzenie, że zidentyfikowana nowa odporność warunkowana jest pojedynczym dominującym genem, który oznaczono symbolem *Pm11*. W dalszej części wykorzystano markery DArTseq do genotypowania form matecznych oraz roślin pokolenia F_2, co umożliwiło określenie sekwencji markerowych silocoDArT sprzężonych z genem odporności i ich konwersję na markery typu SCAR oparte na technice PCR. Spośród zaprojektowanych specyficznych markerów dla genu odporności *Pm11* dwie pary starterów zainicjowały amlifikację produktów zarówno w homo- jak i heterozygotach. To duże osiągnięcie, zważywszy na fakt, iż konwersja markerów jest bardzo trudna, a jej wydajność z reguły jest bardzo niska. Na uwagę zasługuje również fakt, że opracowane

markery pozwalają nie tylko na identyfikację genów u badanych genotypów z wykorzystaniem techniki PCR, ale także na selekcję materiałów z genami w stanie homozygotycznym i heterozygotycznym w badanej populacji. Jest to bez wątpienia bardzo doniosłe osiągniecie w hodowli odpornościowej owsa na mączniaka prawdziwego wywoływanego przez *Blumeria graminis* f. sp. *avenae*.

Wniosek końcowy

Przedłożona do oceny praca doktorska jest dobrze zredagowana, a oceniane publikacje zostały właściwie dobrane i świadczą o konsekwencji w przyjętym kierunku badań. Rozprawa doktorska mgr inż. Tomasza Ociepy wnosi nowe informacje na temat genetyki odpornościowej owsa zwyczajnego i znacząco poszerza wiedzę na temat genetycznego uwarunkowania odporności na mączniaka prawdziwego powodowaną przez *Blumeria graminis* f. sp. *avenae*. Na uwagę zasługuje kompleksowość w podejściu do badanego zagadnienia poczynając od określenia odporności na mączniaka prawdziwego w zgromadzonych w kolekcji genotypach *Avena sterilis*, po określenie profilu odporności wyselekcjonowanych genotypów odpornych z użyciem kilkudziesięciu polskich izolatów, aż do opracowania specyficznych starterów pozwalających na identyfikację odkrytego nowego genu odporności *Pm11* w materiałach wyjściowych do hodowli nowych odmian zwyczajnego o poprawionej odporności na tego patogena. Uzyskane wyniki, oprócz wysokich walorów poznawczych i naukowych, mają także znaczenie utylitarne, ponieważ dzięki mim można opracować skuteczny i szybki system weryfikacji obecności efektywnego genu *Pm11* w materiałach hodowlanych.

Uważam, że temat podjęty przez Doktoranta jest bardzo aktualny i wpisuje się w nurt działań mających na celu poprawę zdrowotności odmian owsa poprzez wykorzystanie mechanizmów genetycznych odporności roślin. Dzięki zastosowaniu właściwych metod badawczych wytyczone cele zostały w pełni zrealizowane, a uzyskane wyniki i wnioski znajdują pełne uzasadnienie w materiale dokumentacyjnym przedstawionym w tabelach i na wykresach w publikacjach stanowiących rozprawę doktorską.

Oceniana praca (zbiór publikacji) mgr inż. Tomasza Ociepy pod tytułem „Identyfikacja i charakterystyka nowego genu odporności *Pm11* na mączniaka prawdziwego owsa pochodzącego z *Avena sterilis* oraz opracowanie markera DNA dla tego genu" wraz z obszernym streszczeniem spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z obowiązującą Ustawą z dnia 14 marca.2003 r. o stopniach i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) w zw. z art. 179 ust. 1

ustawy z dnia 3 lipca 2019 r. Przepisy wprowadzające ustwę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669) oraz Rozporządzenia Ministra Nauli i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. poz. 261). Proszę Radę Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Tomasza Ociepę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wagę podjętego tematu, zakres przeprowadzonych badań, kompleksowość w podejściu do rozwiązywanego zagadnienia, zastosowanie nowoczesnych metod badawczych oraz opracowanie markerów SCAR do identyfikacji nowo odkrytego genu odporności *Pm11* na mączniaka prawdziwego u owsa zwyczajnego, a także za wysoką wartość naukową i praktyczną uzyskanych wyników stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy nagrodą.

Prof. dr hab. Henryk Bujak

Wrocław, dnia 1.12.2019 r.