

dr hab. inż. Stefan Stojalowski, prof. ZUT
Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny
ul. Słowackiego 17
71-434 Szczecin

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. **Roksany Bobrowskiej** pt.
„Przeniesienie loci genów warunkujących odporność horyzontalną na rdzę brunatną z pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) do pszenżyta (*X Triticosecale* Wittmack)”

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska pani mgr inż. Roksany Bobrowskiej o podanym powyżej tytule została wykonana w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu pod opieką promotora dr hab. Michała Kwiatka, prof. UPP. Autorka rozprawy jest absolwentką studiów magisterskich na kierunku „Medycyna roślin”, które ukończyła w roku 2018 na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. W tym samym roku podjęła dalsze kształcenie na studiach doktoranckich prowadzonych w macierzystej uczelni. Kierownik Studiów Doktoranckich dr hab. Monika Jakubus, prof. UPP oceniła realizację programu studiów przez Doktorantkę jako wzorową. Pani Bobrowska nie tylko uzyskiwała wysokie oceny z przedmiotów realizowanych w czasie studiów, ale też bardzo aktywnie angażowała się w działalność naukową. Jej dorobek naukowy zgromadzony w czasie zaledwie czterech lat studiów jest w mojej ocenie imponujący. Poza uczestnictwem w dwóch konferencjach naukowych (ich liczba byłaby zapewne większa, gdyby nie okres pandemii Covid 19) oraz udziałem w projekcie naukowym finansowanym przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, mgr Bobrowska jest współautorką aż piętnastu recenzowanych artykułów w renomowanych czasopismach naukowych. Sumaryczny wskaźnik wpływu (IF) tych prac wynosi ok. 34,5, a suma punktów według listy czasopism punktowanych przez Ministerstwo Edukacji i Nauki jest równa 1300. Spośród wspomnianych piętnastu artykułów naukowych, w pięciu pani Bobrowska była główną autorką i te prace stanowią rdzeń ocenianej rozprawy doktorskiej. Dominujący udział Doktorantki w powstaniu tych prac został potwierdzony w oświadczeniach złożonych przez wszystkich pozostałych współautorów.

Tematyka badawcza podjęta przez Autorkę rozprawy jest bardzo aktualna i znacząca dla dyscypliny naukowej „Rolnictwo i ogrodnictwo”. Wdrażane w Polsce od 2014 roku dyrektywy unijne dotyczące zintegrowanej uprawy roślin znacząco zwiększyły znaczenie hodowli odpornościowej, która jest najbardziej korzystną dla środowiska metodą ograniczania strat gospodarczych wywoływanych przez choroby roślin uprawnych. Obiektami badawczymi w ocenianej pracy było pszenżyto oraz pszenica. Pszenżyto na przestrzeni ostatnich czterdziestu lat zmieniło gruntownie swój status w postrzeganiu przez rolników: w latach 80-tych XX wieku było nowością, ciekawostką, ale szybko stało się użyteczną i bardzo wartościową rośliną uprawną, jedną z najważniejszych w naszej strefie geograficznej. Miarą sukcesu gospodarczego pszenżyta w Polsce może być fakt, że powierzchnia jego uprawy jest w ostatnich latach większa niż żyta, które historycznie dominowało w naszym rolnictwie

przez setki lat. Jednym ze znaczących atutów pszenżyta w pierwszych latach uprawy była jego doskonała odporność na choroby. Obecnie wiemy, że nie była to cecha gatunkowa tego zboża, a jedynie efekt braku wyspecjalizowanych ras patogenów, które byłyby zdolne do infekowania pszenżyta. Patogeny bardzo szybko dostosowały się do struktury upraw i obecnie pszenżyto utraciło już status zboża wszechstronnie odpornego. Spektrum patogenów atakujących pszenżyto jest bardzo zbliżone do sprawców chorób u gatunków rodzicielskich tego zboża. Wśród nich jedną z najpowszechniej występujących, a jednocześnie bardzo uciążliwych chorób jest rdza brunatna. Geny warunkujące odporność roślin zbożowych na rdzę brunatną oznaczane są skrótem *Lr*. Większość z poznanych genów *Lr* warunkuje odporność specyficzną względem konkretnych ras patogenicznych grzybów z gatunku *Puccinia triticina*. Odporność wykazywana przez rośliny jest w takim przypadku bardzo efektywna, ale pojawienie się w środowisku nowej rasy patogenu powoduje szybkie przełamanie odporności. Pani mgr Roksana Bobrowska wybrała jako główny przedmiot swoich badań trzy znane u pszenicy geny odporności horyzontalnej, których działanie nie jest ograniczone do specyficznych ras: *Lr34*, *Lr46* i *Lr68* (geny te są też związane z genami odporności na rdzę żółtą, ale ze względu na przejrzystość tekstu oznaczenia *loci Yr* będę pomijał, jako że tematem pracy doktorskiej jest odporność na rdzę brunatną). Geny odporności horyzontalnej nie warunkują co prawda odporności pełnej, ale za to chronią rośliny przed wieloma rasami patogenu spowalniając rozwój choroby (geny typu *slow rusting*). Główną zaletą tego typu odporności jest uniwersalność działania bez względu na zmieniający się w różnych latach zestaw ras grzyba obecnych na polach. Z tego powodu geny odporności horyzontalnej są przedmiotem dużego zainteresowania hodowców roślin, a w związku z tym badania nad nimi mają istotny aspekt praktyczny.

Za główny cel pracy autorka postawiła sobie ocenę możliwości przeniesienia *loci* wspomnianych powyżej trzech genów warunkujących horyzontalną odporność na rdzę brunatną z pszenicy zwyczajnej do pszenżyta oraz opracowanie warunków analiz typu multipleks PCR, które mogłyby przyspieszyć i obniżyć koszty procesu hodowlanego dzięki zastosowaniu selekcji wspieranej markerami molekularnymi. Zasadniczy cel pracy zdefiniowany na stronie 17 ocenianej rozprawy został przez autorkę zrealizowany. W zasadzie podobny wniosek nasuwa się w zakresie celów określonych przez panią mgr Bobrowską jako „cele pośrednie”, ale oczekuję w tym obszarze bezpośredniej wymiany poglądów w czasie publicznej obrony. Moje zainteresowanie (a może też pewne wątpliwości) budzi, jak autorka rozumie osiągnięcie celu „opracowania metod pozwalających na wybór materiałów do krzyżowań”, a uzasadnienie, czemu ten cel chciałbym przedyskutować znajduje się w dalszej części tej recenzji.

Zanim przejdę do oceny kwestii merytorycznych, kilka zdań charakterystyki rozprawy od strony formalnej: Oceniany manuskrypt liczy 120 stron. Rdzeń pracy doktorskiej stanowią reprinty pięciu artykułów wchodzących w skład cyklu publikacji. Trzy z nich zostały opublikowane w czasopiśmie indeksowanych przez bazę Web of Science, a ich sumaryczny wskaźnik IF wynosi ponad 12. Dwa pozostałe artykuły ukazały się w anglojęzycznych czasopiśmie spoza Web of Science, których punktacja według MEiN mieści się w granicach od 70 do 100 (suma punktów MEiN dla wszystkich pięciu publikacji cyklu to 550). Pierwsza część rozprawy została napisana po polsku i zatytułowana przez autorkę „Autoreferatem rozprawy”. Zawiera ona: wykaz skrótów, wprowadzenie w formie syntetycznego przeglądu

literatury, hipotezę badawczą oraz cele pracy, syntetyczne opisy materiału i metod oraz wyników, które znalazły się w cyklu publikacji, a także dyskusję i spis literatury liczący 126 pozycji. Druga część rozprawy to wspomniane powyżej reprinty artykułów. Na końcową część rozprawy składają się: Podsumowanie i wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz kopie oświadczeń wszystkich współautorów publikacji stanowiących cykl. Napisana w języku polskim wstępna część rozprawy (Autoreferat) jest w pełni informatywny i dobrze wprowadza czytelnika w tematykę badawczą. Nie mogę jednak nie wspomnieć, że tekst ten ma sporo drobnych mankamentów, które nie wpływają na ogólną ocenę merytoryczną, ale sprawiają wrażenie, że zabrakło autorce czasu na dopracowanie szczegółów. Mam tutaj na myśli nie tylko tzw. „literówki”, których nie było wcale wiele. Jako przykład niedociągnięć mogę podać rozdział 2.2 (Choroby grzybowe w uprawie pszenżyta): autorka pominęła tutaj mączniaka, który na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat sprawił europejskim hodowcom pszenżyta chyba najwięcej problemów. Jest to ewidentne przeoczenie autorki, a nie jej niewiedza, bo w rozdziale 2.3 (Hodowla odpornościowa zbóż) wspomina o genach odporności na mączniaka (*Pm*), ale tutaj z kolei wśród wymienianych genów odpornościowych pomija milczeniem geny *Sr*, chociaż w poprzednim rozdziale wspomniała o szkodliwości rdzy żdźbłowej. Jest w tym pewna niekonsekwencja, która wywołuje u czytelnika wrażenie niedopracowania tekstu. Pozwolę sobie pominąć inne uwagi językowe dotyczące tej części pracy, bo jestem przekonany, że autorka, gdy sama przeanalizuje tekst manuskryptu sama je wykryje (nie są to błędy nazbyt liczne, ale jednak są). Zatrzymam się jednak na chwilę przy jednym określeniu, które pojawiło się na stronach 10-11: „plazma zarodkowa”, a to dlatego, że chciałbym panią mgr Bobrowską przestrzec przed mało refleksyjnym wykorzystywaniem tłumaczeń fachowych określeń przenoszonych z języka angielskiego. Sformułowanie „plazma zarodkowa” w zdaniach znajdujących się na stronach 10 i 11 będzie kompletnie niezrozumiałe dla osób, które mają wykształcenie przyrodnicze, ale nie znają terminów fachowych używanych w hodowli. Jeśli ktoś nie zna znaczenia słowa „*germplasm*” używanego w hodowli i genetyce populacji, to skieruje swoje myśli na cytoplazmę lub nukleoplazmę obecną w komórkach zarodków. Oczywiście rozumiem dylematy autorki, bo to pojedyncze słowo z języka angielskiego wciąż nie ma w naszym ojczystym języku odpowiednika. Sformułowanie „plazma zarodkowa” jest spotykane przy tłumaczeniu „*germlasm*” używanego w kontekście rozrodu zwierząt. W odniesieniu do zagadnień poruszanych przez autorkę w przeglądzie literatury uważam to tłumaczenie za niepoprawne, gdyż nie wyjaśnia czytelnikowi, że chodzi o ogół zasobów genowych, które są dostępne dla prac hodowlanych nad pszenżytem.

Pierwsze dwie prace wchodzące w skład cyklu dotyczą opracowania metodyki pozwalającej na analizy określane jako multipleks PCR. Istotą tych badań było dopracowanie składu mieszaniny reakcyjnej oraz warunków termicznych pozwalających na uzyskanie w ramach jednej analizy PCR kilku markerów DNA jednocześnie. Opis wykonanych badań jest z oczywistych względów ograniczony wymogami redakcyjnymi czasopism (pierwsza z prac ma status krótkiego komunikatu), więc nie zawierają szczegółowych opisów związanych z pokonaniem trudności, jakie najczęściej pojawiają się przy tego rodzaju pracach metodycznych. Z osobistego doświadczenia wiem, że opracowanie metody multipleks PCR, która działałaby w sposób niezawodny jest zadaniem wymagającym przeprowadzenia wielu

prób laboratoryjnych. W badaniach wykorzystano trzy opisane w literaturze markery sprzężone z genami typu *slow rusting*:

1. Marker *csLV34* dla genu *Lr34* (Lagudah i in. 2006)
2. Marker *Xwmc44* sprzężony z genem *Lr46* (Suenaga i in. 2003)
3. Marker *csGS* sprzężony z genem *Lr68* (Herrera-Foessel i in. 2012)

Opracowanie metody multipleks PCR zakończyło się powodzeniem, dzięki czemu możliwe jest znaczące zredukowanie kosztów i nakładów pracy przy zastosowaniu tych markerów w hodowli odpornościowej pszenicy i pszenżyta. Wynik ten niewątpliwie należy uznać za sukces.

W ramach trzeciej publikacji cyklu wykonano badania zmierzające do zidentyfikowania potencjalnych nosicieli genu *Lr46* wśród materiałów hodowlanych pszenżyta. Gen *Lr46* jest zlokalizowany na chromosomie 1B i w związku z tym może być obecny w niektórych genotypach pszenżyta. W badaniach wykorzystano wspomniany powyżej marker *Xwmc44* oraz nowy marker dla tego samego genu: *csLv46G22* udostępniony przez dr Lagudahę z Canberry, Australia. Dodatkowo wykonane zostały obserwacje markera morfologicznego w postaci nekroz na końcówkach liści flagowych. Cecha ta była często obserwowana u pszenicy z genami *Lr34* i *Lr46* (ze względu na lokalizację genu *Lr34* na chromosomie 7D, który jest nieobecny w genomie pszenżyta, pojawianie się tej cechy można traktować jako wskazówkę obecności genu *Lr46*). W pracy tej autorzy odnotowali rozbieżności w wynikach genotypowania przy pomocy dwóch markerów sprzężonych z *Lr46*, co było inspiracją do kolejnych badań opisanych w ostatniej publikacji cyklu.

Czwarta publikacja wchodząca w skład cyklu dotyczy ważnego dla praktyki rolniczej zagadnienia poszerzania zmienności genetycznej w puli materiałów hodowlanych pszenżyta. Pszenżyto to gatunek stworzony przez człowieka, a jego historia (a co za tym też ewolucja) liczy niespełna 150 lat. Pomimo, że prace hodowlane i liczba wykonanych krzyżowań między pszenicą i żytem są z punktu widzenia ludzkiego wysiłku bardzo znaczące, to nie były w stanie zastąpić tysięcy lat ewolucji i naturalnego poszerzania zmienności genetycznej, które to procesy miały miejsce w puli genetycznej takich gatunków jak pszenica, żyto itp. W związku z tym wciąż istnieje potrzeba, aby do materiałów hodowlanych pszenżyta wprowadzać brakujące wartościowe gospodarczo geny, które są dostępne w gatunkach rodzicielskich. Krzyżowania międzygatunkowe między pszenżytem a pszenicą, które wykonała mgr Bobrowska stanowią odpowiedź na tę potrzebę, a zrealizowanie opisanych badań wymagało wiele cierpliwości i pracowitości. Same krzyżowania międzygatunkowe są pracą niezwykle niewdzięczną – pomimo dużych nakładów pracy zazwyczaj uzyskiwane są tylko nieliczne nasiona. Proces kastrowania i krzyżowania wymaga dużej precyzji (autorka m. in. wykonywała przy tej okazji mikroskopowe badania żywotności pyłku z roślin ojcowskich). Skuteczność wykonanych krzyżowań była weryfikowana obserwacjami mikroskopowymi z wykorzystaniem technik hybrydyzacji *in situ*. Analizy cytogenetyczne są, podobnie jak krzyżowania międzygatunkowe, pracami badawczymi wymagającymi dużej pracowitości oraz skrupulatności. Opublikowane zdjęcia mikroskopowe są bardzo dobrej jakości, więc uzyskanie ich nie było zadaniem łatwym. Bardzo cieszę się, że pani mgr Roksana Bobrowska nie ograniczyła się w swojej pracy do analiz z udziałem markerów molekularnych, które są zwykle źródłem dużej ilości wyników pozyskiwanych we względnie krótkim czasie. Trud włożony w te bardzo pracochłonne zadania (krzyżowania, analizy cytogenetyczne) został w

pewnym sensie doceniony na etapie publikowania: artykuł ukazał się w czasopiśmie *Frontiers in Plant Science* i w kontekście nauko-metrycznym ma najwyższy wskaźnik wpływu ze wszystkich prac cyklu (IF=5,753).

Odnoszę wrażenie (nie zostało to wprost wyartykułowane w rozprawie), że ostatnia z prac cyklu jest następstwem nie do końca spójnych wyników opisanych w pracy numer 3. Pomimo, że publikacja nie ukazała się w czasopiśmie indeksowanym w bazach międzynarodowych WoS, to uważam, że stanowi cenne dopełnienie rozprawy doktorskiej. Jest w pewnym sensie odpowiedzią na moje wątpliwości, które pojawiły się po lekturze pierwszych trzech artykułów. Z drugiej strony, wyniki opisane w tej publikacji chyba nie do końca zostały docenione przez samą doktorantkę i nie wpłynęły na styl redagowania Autoreferatu. Publikacja jako taka opisuje próbę zweryfikowania wartości diagnostycznej markerów dla genu *Lr46* (w publikacji nr 3 dwa zastosowane markery dawały niezgodne wyniki w pszenzycie, pomimo że oba były blisko sprzężone z genem będącym przedmiotem zainteresowania). W publikacji nr 5 obiektem badawczym była ponownie pszenica, a do genotypowania użyto cztery markery. Trzy z nich znane z literatury: *Xwmc44* (wykorzystany do opracowania warunków multipleks PCR), *Xbarc80* i *Xgwm259*, a także niedostępny w literaturze marker *csLV46G22* udostępniony grzecznościowo przez dr Lagudaha i użyty wcześniej w badaniach nad pszenżytem (publikacja nr 3). Zaletą tego ostatniego markera, poza bliskim sprzężeniem z genem *Lr46* jest też kodominujący charakter pozwalający na łatwą identyfikację heterozygot. Dwa z użytych markerów (*Xbarc80* i *Xgwm259*) nie miały wartości diagnostycznej ze względu na niską stabilność i pojawianie się produktów PCR o niespecyficznym charakterze. Wyniki otrzymane dla markerów *Xwms44* i *csLV46G22* okazały się mało zgodne (podobnie jak wcześniej u pszenżyta). Ze względu na mniejszą odległość genetyczną od genu *Lr46* za bardziej wiarygodny uznano marker *csLV46G22*, co jest według mnie założeniem w pełni logicznym, ale wciąż nie daje to odpowiedzi na pytanie jak bardzo można temu markerowi zaufać? Na pewno bardziej niż *Xwms44*, ale jak bardzo?

Stawiając to pytanie chciałbym wrócić do Autoreferatu i tytułów podrozdziałów 5.1.2, 5.1.3 i 5.1.4 („Molekularna identyfikacja genów...”), a w ślad za tym postawić pytanie, czy są podstawy, aby przyjąć że identyfikacja określonego allelu markera molekularnego jest równoznaczna z identyfikacją genu? Jeśli marker molekularny pozwala nam na identyfikację mutacji funkcjonalnej w genie, to odpowiedź jest niewątpliwie twierdząca. Problem polega na tym, że bardzo ładnie opisana przez mgr Bobrowską w podrozdziale 4.2.2 charakterystyka użytych markerów jednoznacznie informuje, że użyte markery nie identyfikują mutacji funkcjonalnych w genie, a są jedynie markerami sprzężonymi z badanymi genami. Oczywiście sam fakt, że marker molekularny znajduje się w genomie w pewnej odległości od genu nie dyskwalifikuje go jako narzędzia w diagnostyce molekularnej, ale wymusza pewną ostrożność we wnioskowaniu. Wśród wielu czynników, które należy wziąć pod uwagę przy ocenie wiarygodności markera ważna jest nie tylko sama odległość markera od genu, ale też na jak bardzo zróżnicowanym pochodzeniowo materiale wykonano dotychczasowe badania. Jeśli sięgniemy do artykułów źródłowych, to wśród trzech markerów używanych przez doktorantkę od początku badań znajdziemy dość zróżnicowane charakterystyki. Pierwszy z markerów: *csLV34* dla genu *Lr34* (Lagudah i in. 2006) został przez autorów pracy źródłowej przebadany z wykorzystaniem kilku populacji mapujących o zróżnicowanym pochodzeniu oraz na zestawie linii blisko-izogenicznych. Po przebadaniu zróżnicowanego pochodzeniowo

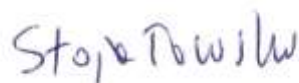
materiału badawczego autorzy wykazywali istotne powiązanie między określonym allelem markera a genem *Lr34*, co pozwoliło im na opisanie go jako marker „diagnostyczny”. Ze względu na wykryte nieliczne zdarzenia rekombinacyjne między *loci* markera a właściwym genem, podkreślili, że jest to marker diagnostyczny, ale nie doskonały (*not perfect marker*). Sporadycznie może się zdarzyć, że allel markera „przypisany” do genu odporności zostanie na skutek zjawiska crossing-over związany fizycznie z genem warunkującym wrażliwość. Niemniej jednak, marker *csLV34* można uznać w świetle tych wyników za wysoce wiarygodny i uniwersalny, chociaż czasami jego identyfikacja nie będzie nam gwarantowała, że gen *Lr34* jest obecny. Nieco gorzej sytuacja wygląda, gdy przyjrzymy się charakterystyce markera *csGS* (Herrera-Foessel i in. 2012). W badaniach tego markera materiałem badawczym był zestaw rekombinacyjnych linii wsobnych (RIL) pokolenia F₅ wytworzonych na bazie genotypów Avocet-YrA i Pavon 76. Jak wspominałem powyżej sprzężenie między markerem a genem może zostać zerwane w wyniku zjawiska crossing-over, a częstotliwość takich zdarzeń w procentach jest w czasie jednego cyklu reprodukcyjnego (w pewnym uproszczeniu) zbliżona do odległości genetycznej w centyMorganach (cM). Rekombinacja między allelami markera i genu jest możliwa tak długo, jak oba znajdują się w stanie heterozygotycznym. W czasie tworzenia populacji RIL proces eliminacji heterozygot jest rozłożony w czasie, więc istnieje co najmniej kilka okazji, aby doszło do rekombinacji między genem i markerem. Przy silnym sprzężeniu markera z genem (odległość między *csGS* i *Lr68* oszacowano na 1,2cM) związek między nimi pozostaje statystycznie istotny w obrębie konkretnego mieszańca pomimo kilku cykli reprodukcji. Niemniej jednak musimy się liczyć z tym, że nawet w obrębie tak zawężonego genetycznie materiału badawczego kilka procent roślin z właściwym allelem markera nie będzie posiadało genu *Lr68*. Kiedy jednak próbujemy przenieść wnioskowanie na materiały hodowlane wykazujące mały stopień pokrewieństwa, w obrębie których liczba cykli reprodukcyjnych, kiedy mogło dojść do rekombinacji genetycznej sięga kilkudziesięciu lub więcej, to nawet tak mała częstotliwość jak 1% rekombinantów w jednym pokoleniu może spowodować, że wyniki analiz z zastosowaniem markerów będą obarczone dużym błędem. Może się okazać, że np. w 20-30% przypadków marker, który miał być wskaźnikiem genu odporności został na skutek crossing-over związany z genem wrażliwości na chorobę – marker jest obecny, ale genu odporności przy nim nie ma. W trzeciej z publikacji użytej w rozprawie doktorskiej jako źródło markera *Xwmc44* (Suenga i in. 2003), materiałem badawczym była populacja linii podwojonych haploidów (DH). Tego typu populacja ma charakter dwu-rodzicielski, więc nie może być uznana za podstawę do charakteryzowania zróżnicowanych genetycznie form, a dodatkowo jest to populacja, w której został celowo przyspieszony proces tworzenia homozygot. Tym samym liczba cykli reprodukcji, w których sprzężenia między markerem i genem mogą być zrywane w sposób naturalny zostały zredukowane do minimum. Tworzenie linii DH jest często wykorzystywane w praktyce hodowlanej zarówno w hodowli pszenicy, jak i pszenżyta, więc opisane w publikacji wyniki mają jak najbardziej zastosowanie praktyczne, ale ich zastosowanie do analizowania zróżnicowanych genetycznie materiałów uzyskiwanych tradycyjnymi metodami uważam za mocno ryzykowne. Wsparcie dla moich poglądów znajduję w wynikach rozprawy mgr Roksany Bobrowskiej, chociaż nie zostały one wyraźnie uwypuklone ani w Autoreferacie, ani w publikacjach wchodzących w skład cyklu. Pierwszym argumentem jest brak zgodności wyników oznaczeń markerowych opisany w pracach numer

3 i 5: dwa markery sprzężone z tym samym genem odporności dawały istotnie odmienne wyniki. Dodatkowo, w podrozdziale 5.1.8 Autoreferatu autorka nawiązuje do wyników porejestrowych doświadczeń odmianowych (PDO) prowadzonych przez COBORU – odmiany charakteryzujące się obecnością allelu markera *Xwms44* sprzężonego z genem odporności *Lr46* (Suenga i in. 2003) nie były odporniejsze na rdzę od pozostałych odmian. Odnoszę wrażenie, że w przypadku licznych oznaczeń wykonanych przez panią mgr Bobrowską allele markerów, które w literaturze były opisane jako wskaźniki genów odporności, wcale nie dowodzą obecności tych genów. Nie znaczy to, że wykonana praca nie ma wartości naukowej oraz praktycznej, bo ocena polimorfizmu markerów oraz opracowanie metody multipleks PCR ma też swoje znaczenie. Jednoznaczne formułowanie na tej podstawie wniosków dotyczących obecności lub nieobecności konkretnych genów odporności jest moim zdaniem obarczone dużym ryzykiem popełnienia błędu. Oczywiście skala tego ryzyka jest różna w zależności od markera, który został użyty w pracy. Z tego właśnie powodu, we wstępnej części tej recenzji zasygnalizowałem, że mam wątpliwości co do zrealizowania jednego z celów pośrednich: „opracowanie metod pozwalających na wybór materiałów do krzyżowań”. Chciałbym, żeby w czasie publicznej obrony doktorantka odniosła się do tej uwagi i wyjaśniła, jak rozumie realizację tego celu przy uwzględnieniu problemów jakie stwarza rekombinacja genetyczna między markerami sprzężonymi, a właściwymi genami warunkującymi cechy użytkowe.

Drugi temat do dyskusji w czasie obrony znajduję w opisie znajdującym się na stronie 14 rozprawy, gdzie pani mgr Bobrowska opisała charakterystykę genu *Lr34*. Jeżeli użyty w pracy marker *csLV34* dla genu *Lr34* (Lagudah i in. 2006) okazałby się niedostatecznie efektywny, to jak ocenia Pani szanse na opracowanie alternatywnego, uniwersalnego markera przydatnego w praktycznej hodowli pszenicy?

Podsumowując: wszystkie moje uwagi edytorskie, jak i większość merytorycznych dotyczą drobnych niedociągnięć lub mają charakter dyskusyjny. Uważam, że rozprawa przedłożona przez mgr inż. Roksanę Bobrowską stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Rozprawa stanowi w mojej ocenie świadectwo, że kandydatka posiada bogatą wiedzę teoretyczną oraz osiągnęła umiejętność samodzielnego prowadzenia prac naukowych dotyczących rolnictwa. W związku z tym **pozytywnie oceniam przedłożoną do oceny rozprawę i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictw Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie mgr inż. Roksanę Bobrowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego, w tym do publicznej obrony doktoratu.**

Szczecin, 5.09.2022.



Stefan Stojałowski