

Prof. dr hab. Andrzej Wojciechowski
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr Klaudii Goriewej-Duba pt. „Zmienność fenotypowa i genotypowa mieszańców pszenicy zwyczajnej i orkiszu oraz wybranych gatunków pszenicy” wykonanej w Katedrze Hodowli Roślin i Nasiennictwa, na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

1. Informacje wstępne

Praca doktorska została przygotowana pod kierunkiem prof. dr hab. Mariana Wiwarta. Jej podstawę stanowi analiza wyników badań mikroskopowych i analiz molekularnych oraz cyfrowej analizy obrazu ziarna pszenno-orkiszowych mieszańców i ich rodziców oraz wybranych gatunków rodzaju *Triticum*. Badania te poszerzono o charakterystykę filogenetyczno-taksonomiczną reliktowych form pszenicy na różnym poziomie ploidalności. Wyniki rozprawy doktorskiej przedstawiają analizę mejozy w użytym materiale badawczym. Na ich podstawie ustalono liczby chromosomów oraz dokonano identyfikacji chromosomów u mieszańców i ich form rodzicielskich. Ponadto, na podstawie obserwacji cyfrowej analizy kształtu i koloru ziarniaków ustalono, iż zastosowana technika pozwala na różnicowanie ziarna z uwzględnieniem stopnia ich porażenia przez patogena grzybowego.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska pt. „Zmienność fenotypowa i genotypowa mieszańców pszenicy zwyczajnej i orkiszu oraz wybranych gatunków pszenicy” stanowi zbiór 3 oryginalnych publikacji, które są tematycznie ze sobą powiązane i tworzą całość ukazującą poprawność merytoryczną i metodyczną podejścia Autorki do podjętego problemu badawczego. Na zestaw prac przedstawionych jako dysertacja składają się następujące publikacje:

- Klaudia Goriewa-Duba, A. Duba, Wachowska U. i Wiwart M. (2018). The Never-Ending Story of the Phylogeny and Taxonomy of Genus *Triticum* L. *Russian Journal of Genetics* 54(12):1429-1437. (IF = 0,559)
- Klaudia Goriewa-Duba, A. Duba, Wachowska U. i Wiwart M. (2018). An Evaluation of the Variation in the Morphometric Parameters of Grain of Six *Triticum* Species with the Use Digital Image Analysis. *Agronomy-Basel*, 8(12): 296. IF = 2,259.
- Klaudia Goriewa-Duba, A. Duba, Kwiatek M., Wiśniewska H. Wachowska U. i Wiwart M. (2018). Chromosomal distribution of pTa-535, pTa-86, pTa-713, 35S

rDNA repetitive sequences in interspecific hexaploidy hybrids of common wheat (*Triticum aestivum* L.) and spelt wheat (*Triticum spelta* L.). PLOS ONE, 13(2), e0192862. IF = 2,776.

Jak z powyższego zestawu wynika, prace te zostały opublikowane we współautorstwie, w którym wkład własny Autorki polegał między innymi na przeprowadzeniu badań i interpretacji wyników, udziale w opracowaniu koncepcji pracy i przygotowaniu do druku. Autorka swój udział w tych pracach określa, odpowiednio na 65, 55 i 60 procent, co potwierdzają załączone do pracy oświadczenia współautorów.

Załączone w dysertacji publikacje poprzedzone są wyczerpującym omówieniem ich celu, metod i wyników oraz dobrze naświetlającym ich problematykę wstępem. Ta część dysertacji jest napisana bardzo dobrze i nie zawiera większych uchybień. Z kolei załączone publikacje przeszły ocenę recenzentów przed zakwalifikowaniem ich do druku i stąd nie widzę potrzeby ich ponownego recenzowania.

Głównym celem badań mgr Klaudii Goriewej-Duba było sprawdzenie, czy możliwe jest wykorzystanie stosunkowo szybkiej i taniej metody cyfrowej analizy obrazu dla różnicowania ziarniaków w aspekcie tak hodowlanym (tworzenie nowych odmian, lepiej dostosowanych do współczesnych technologii upraw), jak i jakościowym. (polepszenie wartości surowca tak dla przemysłu przetwórczego, jak i walorów dietetycznych oraz zdrowotnych) pszenic.

Z powyższych względów problem badań podjętych w ocenianej pracy jest niezmiernie ważny, gdyż może dostarczyć dobrych, tańszych metod preselekcji materiałów hodowlanych oraz eliminacji gorszego jakościowo surowca dla przetwórstwa (np. porażenie ziarniaków patogenami grzybowymi). Dodatkowo, ze względu na użyty w pracy doktorskiej materiał badawczy, dostarcza poszerzonej wiedzy odnośnie filogenezy i taksonomii gatunków w rodzaju *Triticum* L.

Zachętą do podjęcia tych badań były więc potrzeby hodowców oraz chęć wyjaśnienia problemów o bardziej fundamentalnym znaczeniu. Ponadto, praca została wykonana z użyciem nowoczesnych, i co ważniejsze, właściwie dobranych metod cytogenetycznych i molekularnych.

2. Charakterystyka dysertacji

We wstępie Autorka, w oparciu o dane literaturowe, przedstawiła zwięźle filogenezę i taksonomię rodzaju *Triticum*. Jednak zdaniem oceniającego problem ten został nakreślony

dość skromnie i wydaje się, że powinien być potraktowany bardziej dyskusyjnie. Tym bardziej, że pierwsza publikacja włączona do dysertacji jest pod frapującym tytułem "The Never-Ending Story of the Phylogeny and Taxonomy of Genus *Triticum* L.". W tym fragmencie wstępu niedosyt budzi brak własnych przemyśleń Autorki odnośnie opisywanego zagadnienia, a zwłaszcza wskazania chociażby w jaki sposób prowadzone obecnie badania z zakresu genetyki molekularnej mogą przyczynić się (lub nie) do ostatecznego ustalenia filogenezy i taksonomii rodzaju *Triticum*.

Kolejny podrozdział wstępu dotyczy zróżnicowania fenotypowego i genotypowego pszenicy. Przy czym, Autorka zwraca uwagę na fakt, że liczba cech fenotypowych roślin jest ograniczona, a ich zmienność może wynikać z wpływu czynników środowiskowych i specyficznego współdziałania różnych genów. Stąd też badania nad tymi zagadnieniami są czasochłonne. Zwraca się przy tym uwagę na fakt, że bardzo obiecującym w zakresie oceny zmienności genetycznej są obecnie stosowane techniki wykorzystujące molekularne markery DNA (np. SSR, AFLP, RFLP, SNP, DArT). Zaznacza przy tym Autorka, że spośród gatunków pszenic „najczęściej badane są gatunki diplo- i tetraploidalne” Stąd też rodzi się pytanie, czy tylko gatunki pszenic na tych dwóch poziomach ploidalności są ewentualnymi donorami korzystnych cech dla pszenic uprawnych? A co z reliktowymi hexaploidami? Podrozdział ten koresponduje po części z podrozdziałem czwartym, w którym Autorka omawia właściwości gatunków reliktowych jako donorów korzystnych cech dla pszenicy zwyczajnej.

W trzecim podrozdziale omawiane są metody analiz cytogenetycznych, a zwłaszcza te wykorzystujące repetytywne sekwencje DNA, które umożliwiają śledzenie zmian ewolucyjnych oraz tworzenie fizycznych, genomowych map pszenicy. Dla tych celów wykorzystywane są najczęściej klony BAC z genomowej biblioteki pszenicy (pTa-535, pTa-86, pTa-713, pTa-k566, pTa-465), żyta (pSc119.2) i aegilops (pAs1), a także rybosomalny DNA (35S i 5S). Zwraca się przy tym uwagę na fakt, że obserwowane w genomie polimorfizmy sekwencji repetytywnych dostarczają wielu cennych informacji hodowcom pszenicy. Z tego punktu widzenia cel badań nakreślony przez Autorkę niniejszej pracy jest jak najbardziej aktualny i odpowiada zapotrzebowaniu ze strony hodowców. Szkoda, że w tym miejscu Doktorantka nie przytoczyła żadnego przykładu praktycznego wykorzystania dotychczasowych rezultatów tego typu badań. Inaczej, jak to działa na styku polimorfizmy-kreowanie nowych odmian? W rozdziale tym Autorka stwierdza, że „Wykorzystanie sekwencji powtarzalnych pTa-535, pTa-86, pTa-713 i 35S rDNA pochodzących z biblioteki

genomowej pszenicy odmiany Chinese Spring ujawniło wiele podobieństw pomiędzy analizowanymi liniami mieszańców pszenno-orkiszowych i ich komponentów rodzicielskich.” Czy cytat ten należy rozumieć, że nie było podobieństw pomiędzy mieszańcami a ich formami rodzicielskimi?

Ostatni (piąty) podrozdział wstępu dostarcza informacji odnośnie badań nad mieszańcami pszenno-orkiszowymi i jak zaznacza Autorka, współcześnie obserwuje się nasilenie podejmowania prac nad tymi mieszańcami. Z tego punktu widzenia należy podkreślić, że problem badawczy jakiego podjęła się w tej pracy Pani Klaudia Goriewa-Duba wpisuje się w istotny nurt badań podejmowanych przez różne instytucje badawcze i w dużej części odpowiada zapotrzebowaniom ze strony rynku konsumentów.

Wyniki prowadzonych badań zostały w sposób szczegółowy omówione i przedyskutowane w dwóch publikacjach, w których mgr. Klaudia Goriewa-Duba jest autorem wiodącym. Prace, których celem była ocena morfometrycznych parametrów ziarniaków sześciu gatunków pszenicy z użyciem Cyfrowej Analizy Obrazu (CAO) opublikowane zostały w czasopiśmie *Agronomy-Basel* (IF=2,259). Potwierdzono w niej, że zastosowana metoda CAO, uwzględniająca kształt i barwę ziarniaków może być przydatna hodowcom w preselekcji materiałów hodowlanych oraz w szacowaniu jakości ziarna w przemyśle przetwórczym (eliminacja domieszek ziarna innych gatunków oraz ziarniaków zainfekowanych). Dane otrzymane z analiz rozmieszczenia powtarzalnych sekwencji DNA w chromosomach pszenno-orkiszowych mieszańców (F₇) oraz ich form rodzicielskich opublikowano w *PloS One* (IF = 2,259). Trzecia praca jest artykułem przeglądowym i została opublikowana w *Russian Journal of Genetics* (IF = 0,559).

Badania naukowe prowadzone przez Panią Klaudię Goriewa-Duba w sposób syntetyczny zostały omówione w rozdziałach: Materiał roślinny, Hipotezy badawcze i cele prowadzonych badań oraz Najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań. Rezultaty otrzymane z przeprowadzonych badań przedstawiono w 6 punktach stanowiących podsumowanie uzyskanych wyników i wnioski. Zarówno podsumowanie, jak i wysnute wnioski zostały w sposób jasny sformułowane i korespondują z postawionymi w pracy celami i hipotezami badawczymi. Pewne zastrzeżenia budzi brak konsekwencji w stosowaniu nazwy gatunkowej pszenicy zwyczajnej i orkisz. Bowiem we wstępie do dysertacji oraz w publikacjach P1 i P2 używa się nazw łacińskich odpowiednio dla pszenicy zwyczajnej i orkisz: *T. aestivum* L. ssp. *aestivum* i *T. aestivum* L. ssp. *spelta*. Natomiast w publikacji P3 użyto odpowiednio: *T. aestivum* L. i *T. aestivum* L. Skąd te rozbieżności?

3. Ocena dysertacji

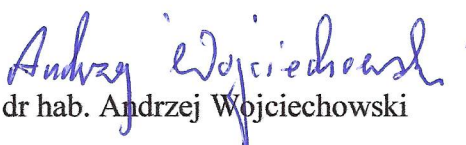
Recenzowana praca doktorska jest przykładem podejmowania trudnej i aktualnej problematyki z zakresu filogenezy i taksonomii roślin, a szczególnie możliwości identyfikowania genotypów na podstawie molekularnych analiz cytogenetycznych. W tym przypadku ważnych roślin uprawnych. Pracę doktorską mgr Klaudii Goriewej-Duba cechuje tradycyjne podejście do problemu badawczego z metodami cytogenetyki eksperymentalnej. Takie podejście było niezbędne ze względu na podjętą problematykę badawczą i zakrojone cele.

Część metodyczna pracy podaje w większości wszystkie niezbędne szczegóły dla poszczególnych zadań badawczych. Pod względem edytorskim praca została przygotowana poprawnie z pewnymi zastrzeżeniami (por. wyżej). Dobór źródeł jest prawidłowy, wszystkie prace podane w wykazie literatury zostały przywołane w tekście. Dokumentacja fotograficzna właściwie ilustrowała wyniki.

Podsumowując uważam, że wymienione w opinii drobne uchybienia w pracy doktorskiej mgr Klaudii Goriewej-Duba nie umniejszają jej merytorycznej wartości. dobrą dokumentację fotograficzną oraz dużą wartość poznawczą i stanowi oryginalny wkład Autorki do badań nad międzygatunkowymi mieszającami pszenicy.

Oceniana rozprawa doktorska spełnia wymagania określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.Nr 65 -poz. 595 z 2003 r.) i rozporządzeniu Ministra Edukacji Narodowej i Sportu z dnia 15 stycznia 2004 r i 30 października 2015 r. w sprawie szczególnego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich i habilitacyjnych oraz postępowania o nadanie tytułu profesora (Dz. U. Nr 15 poz. 128 z 2004 r.). Wobec powyższego wnoszę do Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr Klaudii Goriewej-Duba do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Poznań, dnia 02 kwietnia 2020 r.


prof. dr hab. Andrzej Wojciechowski