



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28
60-637 Poznań
tel. +48 61 848 70 01
e-mail: rektorat@up.poznan.pl

Wpłynęło dnia:

01. 09. 2023

**Dziekanat Wydziału
Biotechnologii i Ogrodnictwa URK**

**WYDZIAŁ ROLNICTWA,
OGRODNICTWA I
BIOINŻYNIERII
KATEDRA GENETYKI I HODOWLI ROSLIN**

Poznań, 10.08.2023 r.

Prof. UPP dr hab. Agnieszka Tomkowiak
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Ul. Wojska Polskiego 28
61 – 064 Poznań

**Recenzja rozprawy doktorskiej magistra inżyniera Romana Erwina Bathelta
pt. Ocena tolerancji mieszańców owsa z kukurydzą na stres suszy glebowej.**

1. Podstawa formalno-prawna opracowania recenzji

Recenzja została opracowana na zlecenie Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo, Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie Pana prof. dr hab. inż. Marcina Rapacza z dnia 5.07.2023 (uchwała nr RD-66/2023).

Przedstawiona praca została wykonana w Katedrze Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa, pod kierunkiem dr hab. Tomasza Warzechy, prof. URK. Promotorem pomocniczym była dr Marzena Warchoń.

Przewód został wszczęty w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

2. Ocena wyboru problematyki badawczej

Problematyka naukowa, którą podjął w swojej pracy doktorskiej Pan mgr inż. Roman Bathelt znajduje się w obszarze trudnych badań, z zakresu biotechnologii, o dużych wartościach zarówno poznawczych jak i aplikacyjnych, z próbą poznania mechanizmów odporności na stres suszy jak i usprawnienia cyklu hodowlanego owsa. Tematyka podjęta przez Pana Bathelta jest niezwykle ważna, ponieważ susza, obok powodzi, jest jednym z najbardziej dotkliwych, ekstremalnych zjawisk naturalnych, oddziałujących na społeczeństwo, środowisko i gospodarkę. Problem deficytu wody i związanego z nim zjawiska suszy pogłębia się. Wynika to zarówno z nasilającej się antropopresji, jak i zmian klimatu. Skutki suszy można łagodzić, nie tylko stosując renaturyzację, czy też odtwarzanie naturalnych terenów zalewowych i

przywracanie terenów podmokłych, ale również uprawiając rośliny odporne na stres suszy. Oczywiście jest, że czasowy brak wody wpływa bardzo niekorzystnie na rośliny, ogranicza przebieg fotosyntezy, pobieranie składników pokarmowych, powodując zmniejszenie ilości i jakości plonu upraw. Skutki suszy mogą ujawnić się z różnym nasileniem, w zależności od gatunku roślin, rodzaju gleb czy regionu geograficznego. Jak wynika z pracy Pana Bathelta poznanie genetycznego podłoża odporności roślin na stres suszy ma podstawowe znaczenie dla podniesienia produktywności upraw owsa. Otrzymanie nowych odmian, odpornych na występującą stale lub pojawiającą się okresowo suszę może przynieść korzyści zarówno ekonomiczne jak i społeczne. Do korzyści tych można zaliczyć np. wykorzystanie strefy tropikalnej, gdzie produkcja z zastosowaniem tradycyjnych gatunków i odmian roślin jest niemożliwa z powodu suszy, można również zmniejszyć ryzyko związane z okresowym występowaniem suszy w strefie klimatu umiarkowanego. Złożoność mechanizmów odporności roślin na stesy abiotyczne jest poważnym wyzwaniem dla hodowców roślin. Programy hodowlane ukierunkowane na uzyskanie odmian roślin uprawnych, lepiej przystosowanych do uprawy w warunkach odbiegających od optymalnych są złożonymi przedsięwzięciami organizacyjnymi. Wymagają one długotrwałych prac przygotowawczych, na które składają się poszukiwanie źródeł genetycznej odporności i opracowanie metodyki umożliwiającej jednoznaczne odróżnienie form odpornych od wrażliwych. Również sam proces hodowlany komplikuje się z powodu prowadzenia dodatkowej oceny cech związanych z odpornością. Poważne nadzieje na usprawnienie hodowli form odpornych na stres suszy można wiązać z szerszym zastosowaniem technik kultury *in vitro* i metod inżynierii genetycznej. Wobec powyższego wybranie tej tematyki badań uważam za bardzo ważne i uzasadnione.

3. Formalna ocena pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w formie monografii oraz pojedynczej publikacji, zgodnie z wymogami stawianymi tego typu opracowaniom. Praca liczy 139 stron i została podzielona na 9 rozdziałów: „Wykaz stosowanych skrótów” (1), „Wstęp” (2), „Przegląd literatury” (3), „Cel pracy” (4), „Materiał i metody” (5), „Wyniki” (6), „Dyskusja” (7), „Podsumowanie i wnioski” (8), „Spis literatury” (9). W obrębie rozdziałów: „Przegląd literatury”, „Materiał i metody” oraz „Wyniki” Autor wyodrębnił liczne podrozdziały, dzięki którym uporządkowano zakres prowadzonych prac dotyczących rozprawy. Przyjęty przez Autora podział jest przejrzysty i spójny, a wszystkie rozdziały i podrozdziały mają właściwe proporcje. „Cel pracy” traktuje o głównym założeniu rozprawy i



obejmuje pięć celów szczegółowych. „Przegląd literatury”, „Materiał i metody” oraz „Wyniki” zawierają liczną dokumentację w formie 49 tabel oraz 26 rycin. Prezentowana praca doktorska zawiera również bogate, właściwie dobrane i aktualne piśmiennictwo (142 pozycje literaturowe). Podsumowując uważam, że układ opracowania jest typowy dla rozprawy doktorskiej, logiczny, bardzo przejrzysty i spełnia wymagania stawiane tego typu pracom.

4. Merytoryczna ocena pracy

Tytuł

„Tytuł” rozprawy doktorskiej w pełni odpowiada zakresowi prowadzonych a następnie opisanych w dysertacji badań.

Wstęp

„Wstęp” został ujęty przez Autora w sposób syntetyczny. Zawiera wszystkie niezbędne informacje, pozwalające zorientować się czytelnikowi w tematyce, która dotyczy prowadzonych badań. Autor scharakteryzował owies jako gatunek doceniany gospodarczo, zwrócił również uwagę na jego walory prozdrowotne, w szczególności na skład chemiczny ziarna. W rozdziale tym został poruszony szeroko dyskutowany obecnie temat suszy jako zjawiska niekorzystnie wpływającego na osiągnięte plony owsa. Magister Bathelt zwrócił uwagę na bardzo kosztowne zabiegi interwencyjne, zapobiegające negatywnym skutkom suszy, do których zaliczamy deszczowanie. Zdaniem Autora jednym z rozwiązań opisanych problemów może być znalezienie mieszańców z genetycznie uwarunkowaną odpornością na stres suszy. Temu tematowi poświęcona jest przedstawiona dysertacja. Magister Bathelt zwraca również uwagę na fakt, że oprócz odnalezienia właściwego genotypu, istotne jest również uzyskanie homozygotyczności i utrwalenie pożądaných cech. Mimo poprawnego zredagowania „Wstępu” pojawiły się bardzo drobne uchybienia przedstawione poniżej:

Uwagi

1. Na stronie 7 (wiersz 16) znalazło się niefortunne zdanie „Niezbędna ilość opadów uzależniona jest także między innymi od przebiegu temperatur czy wymagań wodnych uprawianych roślin w poszczególnych okresach wegetacji (Lal i in. 2012).” Ilość opadów nie zależy od przebiegu temperatur i wymagań wodnych roślin, a na to wskazuje zdanie. Być może Autorowi chodziło o to, że wymagania wodne roślin oraz panująca w danym okresie temperatura są wskaźnikiem jaka ilość opadów byłaby potrzebna, aby roślina rozwijała się prawidłowo.
2. Na stronie 8 (wiersz 11) pojawiła się informacja, że „określono przydatność mieszańców do

poszukiwania źródeł odporności na suszę”. Mieszańce nie są przydatne do poszukiwania źródeł odporności na suszę, a raczej same mogą stanowić źródło tej odporności. Ta część zdania powinna brzmieć „określono przydatność mieszańców jako źródeł genetycznie uwarunkowanej odporności na suszę”.

3. Tuż za rozdziałem „Wstęp” zabrakło celu pracy, który stanowiłby dopełnienie zarysowanego problemu badawczego i propozycję jego rozwiązania. Oczywiście cel pracy został postawiony ale za rozdziałem „Przegląd literatury”.

Przegląd literatury

W bardzo obszernym rozdziale „Przegląd literatury” Autor przedstawia aktualny stan badań w zakresie zagadnień dotyczących prowadzonych analiz. Wyczerpujący przegląd literatury udokumentowany jest licznymi doniesieniami (142 pozycje), co wskazuje na bardzo dobre rozpoznanie tematu i dużą wiedzę. Rozdział „Przegląd literatury” został podzielony na podrozdziały, co jest zasadne przy wykorzystaniu tak wielu pozycji literaturowych. Dzięki temu zabiegowi praca jest bardzo czytelna i przejrzysta. W podrozdziale pierwszym Autor przytacza informacje na temat znaczenia gospodarczego owsa, jego budowy morfologicznej oraz pochodzenia. Magister wskazuje, że Polska jest trzecim, największym światowym producentem ziarna owsa oraz największym w Unii Europejskiej. Podrozdział ten zawiera również charakterystykę odmian znajdujących się w rejestrze COBORU. W podrozdziale tym Autor scharakteryzował metody wykorzystywane w hodowli twórczej owsa między innymi metodę rodowodową, ramszów oraz pojedynczych nasion. Istotnym elementem w przeglądzie literatury jest podrozdział drugi, w którym zostało opisane znaczenie podwojonych haploidów owsa. Jak wiemy metoda hodowli DH jest niezwykle przydatna z technologicznego punktu widzenia. Uzyskiwanie stabilnych genetycznie odmian zbóż wymaga wielu lat intensywnej pracy. Linie DH umożliwiają uzyskanie stosunkowo wysokiej liczby ustalonych genetycznie osobników. Metody otrzymywania linii DH pozwalają na skrócenie procesu hodowlanego, co jest niezwykle istotne dla hodowców, poszukujących nowych odmian. Linie DH można również uzyskać metodą krzyżowania oddalonego, na co Autor zwrócił uwagę w podrozdziale trzecim. W podrozdziale tym wiele miejsca poświęcono również wykrywaniu mieszańców owsa z kukurydzą oraz badaniu introgresji. W końcowych podrozdziałach Autor skupił się na najważniejszych kwestiach zawartych w dysertacji, czyli znaczeniu stresu suszy w produkcji roślinnej, w tym również owsa. Problem został omówiony bardzo szczegółowo, między innymi scharakteryzowano cztery rodzaje suszy, w zależności od długości trwania okresu bez opadów, opisano straty w plonie oraz reakcję roślin owsa na stres niedoboru wody. Opisane zostały również działania prewencyjne oraz sposoby monitorowania suszy glebowej w Polsce.



Podsumowując stwierdzam, że „Przegląd literatury” dobrze argumentuje wybór określonych metod postępowania, stosowanych w części eksperymentalnej pracy.

Uwagi

1. W mojej ocenie Autor opisując reakcję roślin na stres suszy w poszczególnych okresach wegetacyjnych zbyt mało uwagi poświęca analizowanemu gatunkowi skupiając się na zbożach ogółem (strona 25).
2. W tej części pracy pojawiły się drobne błędy interpunkcyjne.

Cel pracy

Cel główny pracy, którym było „zbadanie wybranych parametrów fizjologicznych, biochemicznych oraz agronomicznych linii OMA owsa powstałych na drodze krzyżowania oddalonego z kukurydzą w warunkach suszy glebowej i na tej podstawie wytypowanie linii najlepiej przystosowanych do wzrostu i rozwoju w warunkach niedoboru wody” został poprawnie sformułowany. W rozdziale czwartym poprawnie wyodrębniono cele szczegółowe, które są przypisane do poszczególnych zadań badawczych.

Materiał i metody

Rozdział „Materiał i metody” został opracowany właściwie i czytelnie. Charakterystyka materiału roślinnego przeznaczonego do badań została przedstawiona w formie opisu oraz tabeli. Materiał stanowiło 120 linii podwojonych haploidów owsa, uzyskanych metodą krzyżowania oddalonego mieszańców wewnątrzgatunkowych owsa z kukurydzą. Z opisu wynika, że w przypadku analiz molekularnych jako kontroli pozytywnej użyto odmiany kukurydzy Waza, natomiast jako kontroli negatywnej odmiany owsa Stoper.

Uwagi

1. Poproszę o wyjaśnienie co było kryterium wyboru konkretnych linii DH? Czy mieszańce wewnątrzgatunkowe owsa, z których otrzymano linie DH były oceniane pod kontem odporności na stres suszy?
2. W mojej opinii przy opisie materiału roślinnego (strona 35), wykorzystanego w poszczególnych doświadczeniach zabrakło wydzielonego punktu pt. „Materiał roślinny”, gdzie zostałby on przedstawiony w całości, w syntetycznej formie. Początkowo w pracy jest mowa o Pokoleniu F2, w miarę jak czytelnik zagłębia się w kolejne rozdziały pracy pojawiają się informacje np. o pokoleniu F3, które było analizowane w szklarni co wprowadza trochę zamieszania.
3. W opisie materiału roślinnego nie podano pochodzenia kukurydzy, która posłużyła jako zapylacz.

Metodyka w pracy została opisana bardzo skrupulatnie, szczegółowo przedstawiono wszystkie, metody badawcze. Na pochwałę zasługuje fakt, że realizując założenia pracy doktorskiej Autor przeprowadził liczne doświadczenia takie jak: doświadczenie szklarniowe, doświadczenie tunelowe, analizy molekularne (identyfikacja linii OMA), test utraty wody, analizę parametrów biochemicznych, analizy fluorescencji chlorofilu a, analizy wybranych elementów składowych plonu oraz analizy statystyczne. Przeprowadzenie tak wielu analiz wymagało dużego zaangażowania doktoranta. W doświadczeniu szklarniowym precyzyjnie opisano warunki panujące w szklarni oraz indukcję stresu suszy, jeżeli natomiast chodzi o materiał roślinny pojawiło się pokolenie F3, o którym nie wspomniano w punkcie dotyczącym materiału roślinnego (uwaga poniżej). Ponadto podrozdział 3 opisano bardzo dobrze. W podrozdziale 4 opisano doświadczenie tunelowe. Precyzyjnie scharakteryzowano warunki panujące w tunelu oraz wywołanie stresu suszy. Test utraty wody został przeprowadzony zgodnie z powszechnie stosowaną metodologią i szczegółowo opisany w podrozdziale 5. Niewątpliwie na pochwałę zasługuje zaangażowanie doktoranta i ogromna ilość pracy włożona zarówno w doświadczenie szklarniowe jak i tunelowe. Oba doświadczenia zostały udokumentowane na fotografiach zamieszczonych w pracy. Na szczególną uwagę zasługuje podrozdział 6, w którym przedstawiono cały wachlarz metod służących analizom parametrów biochemicznych. Do określenia sumarycznej ilości cukrów wykorzystano metodę fenolową, do oszacowania zawartości związków fenolowych wykorzystano metodę Folina i Ciocalteu, zawartość barwników oznaczono zmodyfikowaną metodą spektrofotometryczną według Lichtenthaler i Wellburn. Oprócz analiz biochemicznych wykonano również analizy fluorescencji chlorofilu a opisane szczegółowo w podrozdziale 7. Pomiary kinetyki fluorescencji chlorofilu a wykonano za pomocą specjalnego fluorymetru. Ponadto w podrozdziale 8 opisano metody analizy wybranych elementów składowych plonu. Analizie poddano rośliny z doświadczenia szklarniowego oraz tunelowego. Pomiary prowadzono dla wszystkich wazonów z obu doświadczeń. Holistyczne podejście Autora do problemu, związanego z tolerancją mieszańców owsa z kukurydzą na stres suszy glebowej, znalazło wyraz w doborze różnych metod badawczych niezbędnych do prawidłowego wnioskowania. Autor analizując problem wielopłaszczyznowo ma szansę na znalezienie i wprowadzenie nowych rozwiązań do hodowli owsa.

Uwagi

1. W opisie metody izolacji DNA (strona 37) brakuje informacji czy dla każdego genotypu pobierano jeden liść z jednej rośliny, czy może była to próba zbiorcza z kilku roślin?
2. Nie podano informacji na temat czystości wyizolowanego DNA przy absorbancji 260/280



oraz 260/230 (strona 38). Zanieczyszczenia w znacznym stopniu wpływają na jakość reakcji PCR, co przekłada się na czytelność obrazów elektroforetycznych.

3. Przy opisie składu mieszaniny PCR (strona 38) podano tylko objętości poszczególnych składników, brakuje natomiast ilości substancji wyrażonych w molach.

4. W opisie na stronie 40 znalazło się niefortunne zdanie „Doświadczenie szklarniowe prowadzono na dwóch pokoleniach (F2 i F3) i 14 liniach OM oraz odmianie owsa Bingo.” Spójnik „i” wskazuje, że analizowano „jakieś genotypy” F2 i F3 i 14 linii OMA, a także odmianę Bingo. Rozumiem, że analizowano 14 linii OMA oraz odmianę Bingo pokolenia F2 i F3? Wówczas będzie to tożsame z poniższym opisem doświadczenia złożonego z 240 wazonów.

Wyniki

Obszerne wyniki badań zostały przedstawione na 63 stronach. Rozdział ten został podzielony na trzy podrozdziały, w których bardzo szczegółowo i przejrzysto przedstawiono wyniki prowadzonych analiz. W podrozdziale pierwszym zatytułowanym „Badania molekularne” Autor przedstawił wyniki analiz dotyczących identyfikacji linii OMA z wykorzystaniem łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). W celu zobrazowania wyników Doktorant przedstawił ryciny przedstawiające rozdziały elektroforetyczne produktów reakcji PCR. Z opisu wynika, że introgresję materiału genetycznego kukurydzy stwierdzono w przypadku 15 ze 120 linii DH. Autor przedstawił również wyniki identyfikacji chromosomów kukurydzy w liniach OMA. Wyniki te również zostały zobrazowane za pomocą rycin. Według autora najczęściej u badanych linii OMA obserwowano chromosom kukurydzy nr 9 (występował u 10 z 14 badanych linii), stwierdzenie to jest jednak niespójne z tym co autor podaje w rozdziale „Podsumowanie i wnioski” – uwaga poniżej. W kolejnym bardzo obszernym podrozdziale „Doświadczenie szklarniowe” Doktorant bardzo precyzyjnie i szczegółowo przedstawił interesujące wyniki dotyczące testu utraty wody, licznych analiz parametrów biochemicznych oraz analizy fluorescencji chlorofilu a. Wszystkie wyniki zostały umieszczone w czytelnych tabelach i drobniaczko opisane. Autor wykorzystując analizę wariancji wykazał istotny wpływ suszy glebowej na kształtowanie się 8 parametrów biochemicznych już w pierwszym dniu suszy glebowej i wszystkich 11 parametrów w 14 dniu suszy w doświadczeniu szklarniowym. Pojawiła się różnica pomiędzy doświadczeniem szklarniowym a tunelowym, ponieważ w tym drugim po 14 dniach odnotowano wpływ suszy na 7 parametrów biochemicznych. Podobne zależności zauważono dla parametrów fluorescencji chlorofilu – pytanie poniżej. Aby zwiększyć prawdopodobieństwo poprawnego wnioskowania Autor wykonał również analizy



2. Jak wspomniano już przy okazji omawiania „Wyników” w pracy pojawiła się niespójność. W rozdziale „Podsumowanie i wnioski” (strona 124) Doktorant pisze „Zastosowane analizy SSR-PCR pozwoliło na stwierdzenie, że u badanych linii OMA najczęściej występował chromosom nr 10 (u 5 linii),” natomiast na stronie 58 („Wyniki”) Autor pisze „Najczęściej u badanych linii OMA obserwowano chromosom kukurydzy nr 9, występował on w genomie 10 z 14 badanych linii.”. Proszę o zweryfikowanie tych informacji.

Spis literatury

Prezentowana praca doktorska zawiera bogate, właściwie dobrane i aktualne piśmiennictwo (142 pozycje literaturowe).

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pana mgr. inż. Romana Bathelta pt. „Ocena tolerancji mieszańców owsa z kukurydzą na stres suszy glebowej.” została wykonana w oparciu o starannie dobraną metodykę badań. Solidne wyniki zostały bardzo dobrze udokumentowane. Bardzo obszerny zakres badań szklarniowych, tunelowych, analiz statystycznych, laboratoryjnych (w tym analiz molekularnych oraz analiz biochemicznych) wskazuje na bardzo dobre przygotowanie Autora do prowadzenia interdyscyplinarnych prac naukowych. Na podkreślenie zasługuje zastosowanie różnorodnych metod badawczych adekwatnych do rozwiązywanego problemu. Recenzowana praca wnosi nowe elementy użytkowe i poznawcze do zagadnień związanych z suszą glebową pojawiającą się w uprawie wielu roślin rolniczych, w tym owsa. Ponadto Doktorant posiada duże umiejętności stosowania złożonych i trudnych procedur metodycznych, niezbędnych do badania genomu roślinnego na poziomie molekularnym. Posiada również szeroką wiedzę genetyczną i hodowlaną. Drobne, wręcz kosmetyczne uwagi pojawiające się przy omawianiu poszczególnych rozdziałów pracy, w żaden sposób nie umniejszają jej wartości.

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Romana Bathelta spełnia wszystkie wymagania określone w art. 187, Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742,). Treść rozprawy doktorskiej mieści się w obszarze nauk rolniczych, leśnych i weterynaryjnych, w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Wnioskuje o dopuszczenie Autora rozprawy Pana mgra Romana Bathelta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy, szeroki zakres prowadzonych badań, holistyczne podejście do problemu suszy glebowej i bardzo duże

zaangażowanie Doktoranta wnioskuje o wyróżnienie Autora stosowną nagrodą.

Poznań, 10.08.2023


Prof. UPP dr hab. Agnieszka Tomkowiak