

Wrocław 07.09.2025

Recenzja

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Sobiech pt. **„Wielowymiarowa eksploracja molekularnych mechanizmów związanych z odpornością kukurydzy (*Zea Mays*) na fuzarium”** wykonanej w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, pod kierunkiem Prof. UPP dr hab. Agnieszki Tomkowiak.

Recenzję wykonano na zlecenie prof. UPP dr hab. Piotra Rybackiego – Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w oparciu o pismo RNDRIO-61/4000/2025 z dnia 03.07.2025. Pismo to zawierało informację o powołaniu mojej osoby na recenzentkę rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Aleksandry Sobiech. Przewód został wszczęty w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Praca została zaprezentowana w formie cyklu czterech spójnych tematycznie publikacji z opisem. Prace opublikowane zostały w recenzowanych czasopismach w latach 2022-2023. Wykorzystane w pracy cztery publikacje osiągnęły sumaryczną punktację MNiSW 420 punktów i łączny współczynnik wpływu Impact Factor wg Journal of Citation Reports zgodnie z rokiem opublikowania 13,4. Na cykl publikacji składały się:

- 1) Sobiech, A., Tomkowiak, A., Nowak, B., Bocianowski, J., Wolko, Ł., Spychała, J. (2022). Associative and Physical Mapping of Markers Related to Fusarium in Maize Resistance, Obtained by Next-Generation Sequencing (NGS). International Journal of Molecular Sciences, 23(11), 6105. <https://doi.org/10.3390/ijms23116105>
- 2) Sobiech, A., Tomkowiak, A., Bocianowski, J., Nowak, B., Weigt, D., Kurasiak-Popowska, D., Kwiatek, M., Mikołajczyk, S., Niemann, J., Szewczyk, K. (2022). Application Marker-Assisted Selection (MAS) and Multiplex PCR Reactions in Resistance Breeding of Maize (*Zea mays* L.). Agriculture, 12(9), 1412. <https://doi.org/10.3390/agriculture12091412>

- 3) Sobiech, A. (2023). Molekularne mechanizmy odporności na fuzariozę kolb kukurydzy. *Fragmenta Agronomica* 40(1), 14–24. DOI: 10.26374/fa.2023.40.2
- 4) Sobiech, A., Tomkowiak, A., Bocianowski, J., Szymańska, G., Nowak, B., Lenort, M. (2023). Identification and Analysis of Candidate Genes Associated with Maize Fusarium Cob Resistance Using Next-Generation Sequencing Technology. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23), 16712. <https://doi.org/10.3390/ijms242316712>

Recenzja przedłożonej pracy skupiała się będzie na przygotowanym przez doktorantkę opracowywaniu wyżej wymienionych publikacji i ich doborze w celu stworzenia spójnej tematycznie pracy doktorskiej.

Tematyka rozprawy doktorskiej magister Sobiech dotyczy zagadnienia wyjątkowo ważnego dla praktyki rolniczej i hodowlanej. Choroby fuzaryjne kukurydzy, a w szczególności fuzarioza kolb, stanowią jedno z największych zagrożeń dla jakości i ilości plonów tego gatunku. Problem nabiera szczególnego znaczenia w kontekście globalnych zmian klimatycznych, które sprzyjają rozwojowi patogenów, oraz w obliczu coraz bardziej restrykcyjnych ograniczeń w stosowaniu chemicznych środków ochrony roślin. Rozwój wiedzy na temat genetycznych i molekularnych podstaw odporności na *Fusarium* spp. jest nie tylko zadaniem poznawczym, ale ma też duże znaczenie praktyczne, ponieważ może umożliwić hodowcom skrócenie procesu selekcji i zwiększenie skuteczności wprowadzania na rynek odmian odpornych. Wybór tematu przez doktorantkę oceniam jako trafny, w pełni uzasadniony i odpowiadający na realne potrzeby zarówno nauki, jak i praktyki.

Tytuł rozprawy doktorskiej w pełni odpowiada zakresowi prowadzonych a następnie opisanych w dysertacji badań jednak sugerowałabym unikanie sformułowania „odporność na fuzarium”. Poprawna terminologia to choroby fuzaryjne, fuzariozy lub odporność na grzyby z rodzaju *Fusarium*.

Praca posiada jasno sformułowaną hipotezę badawczą, zgodnie z którą wielowymiarowa analiza genetycznych uwarunkowań wybranych genów i regionów genomowych pozwoli lepiej zrozumieć mechanizmy odporności kukurydzy na *Fusarium* spp. oraz wytypować geny istotne

w tej odpowiedzi. Cele badawcze zostały zdefiniowane w sposób klarowny i obejmowały zarówno aspekt identyfikacyjny, polegający na wyszukaniu i walidacji markerów molekularnych związanych z odpornością, jak i aspekt funkcjonalny, dotyczący analizy ekspresji genów kandydujących. Zrealizowane zadania obejmowały m.in. opracowanie starterów diagnostycznych, optymalizację procedur PCR, przeprowadzenie doświadczeń polowych i laboratoryjnych oraz pogłębione analizy bioinformatyczne. Wszystkie cele zostały osiągnięte, a przedstawione wyniki stanowią spójną całość, dobrze powiązaną z pierwotnymi założeniami.

Autorka podzieliła opracowanie na 12 rozdziałów: Wykaz skrótów, Streszczenie, Streszczenie w j. angielskim, Wprowadzenie, Hipoteza badawcza i cel pracy doktorskiej, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie i wnioski, Bibliografia, Spis tabel i rycin, Opublikowane prace wchodzące w skład zbioru, Oświadczenia autorów oraz Literatura.

Warsztat badawczy zastosowany w rozprawie zasługuje na uznanie. Autorka umiejętnie połączyła doświadczenia polowe z szerokim spektrum metod molekularnych i bioinformatycznych. Fenotypowanie materiału roślinnego, prowadzone w warunkach polowych, pozwoliło uzyskać wiarygodne dane o reakcji różnych genotypów na infekcję *Fusarium* spp. Równocześnie przeprowadzono izolację DNA i RNA, co umożliwiło dokładne badania na poziomie molekularnym. Genotypowanie z użyciem technologii DArTseq, obejmującej zarówno markery silicoDArT, jak i SNP, pozwoliło uzyskać obszerny zestaw danych do analiz asocjacyjnych. Zastosowanie analizy GWAS umożliwiło identyfikację markerów związanych z cechą odporności, a mapowanie fizyczne pozwoliło powiązać je z konkretnymi regionami genomu kukurydzy. Autorka wykorzystała także metody PCR i RT-qPCR, zarówno w kontekście walidacji markerów, jak i analizy poziomu ekspresji genów kandydujących. Całość badań uzupełniono analizami transkryptomicznymi, które poszerzyły obraz mechanizmów odpornościowych. Trzeba podkreślić, że przeprowadzenie tak szerokiego wachlarza badań wymagało nie tylko doskonałej znajomości technik laboratoryjnych, ale również umiejętności integracji i krytycznej analizy dużych zbiorów danych.

Równocześnie, kilka elementów wymaga doprecyzowania i mogłoby dodatkowo wzmocnić jakość opracowania. W opisie metodyki brak jest szczegółowych informacji dotyczących modelu statystycznego użytego w analizie GWAS oraz ewentualnej korekty na strukturę populacji. Dodanie tych informacji, a także prezentacja wykresów typu QQ plot, które pokazują rozkład wartości p w stosunku do oczekiwanego, znacząco poprawiłoby przejrzystość analiz. Warto byłoby też wskazać, czy zastosowano macierz pokrewieństwa i jak została ona skonstruowana – to szczególnie istotne przy pracy z markerami dominującymi typu silicoDArT, które wymagają innych podejść niż standardowe algorytmy opracowane dla SNP. Z drugiej strony, już samo wykorzystanie szerokiego zestawu markerów i przeprowadzenie wielowymiarowych analiz świadczy o dużej odwadze badawczej i ambicji autorki.

Podobne uwagi dotyczą wykorzystanych algorytmów do oceny zróżnicowania genetycznego. Doktorantka wskazała użycie dystansu Nei, który jest właściwy dla markerów binarnych, jednak dla SNP lepszym wyborem byłby dystans Rogera, opracowany dla markerów kodominujących. Optymalnym rozwiązaniem mogłoby być przeprowadzenie osobnych analiz w oparciu o każdy typ markerów z użyciem odpowiednich algorytmów. Tego typu rozdzielenie mogłoby uwiarygodnić otrzymane wyniki, jednak już obecny zestaw analiz daje wartościowy obraz zróżnicowania badanych materiałów.

W analizie wymiarowej autorka zastosowała PCA. Jest to podejście często stosowane i poprawne, jednak pewną alternatywą, być może lepiej oddającą relacje biologiczne, byłoby użycie MDS opartego na dystansie Nei lub Rogera. To uwaga techniczna, niepodważająca wartości wyników, lecz mogąca wskazać kierunki rozwoju przyszłych badań. Brakuje także jednoznacznego opisu sposobu analizy danych fenotypowych – nie wiadomo, czy do GWAS wykorzystano średnie, BLUP, BLUE czy dane surowe. Uzupełnienie tej informacji pozwoliłoby czytelnikowi lepiej ocenić solidność analiz.

Z punktu widzenia interpretacji wyników warto zwrócić uwagę, że spośród ponad czterech tysięcy markerów istotnych wybrano 26 do dalszych badań. Nie podano jednak kryteriów selekcji. Być może chodziło o wytypowanie markerów powiązanych z konkretnymi genami kandydującymi, ale wyjaśnienie tej decyzji byłoby cenne. Mimo tego wybrane markery mają

dużą wartość praktyczną – zostały zoptymalizowane w reakcjach PCR i mogą być bezpośrednio wykorzystane w hodowli do różnicowania genotypów odpornych i podatnych. To bardzo mocna strona pracy, pokazująca, że autorka nie ograniczyła się wyłącznie do analiz statystycznych, ale dostarczyła narzędzi o potencjale wdrożeniowym.

Wartością dodaną jest także walidacja genów referencyjnych do analiz ekspresji w warunkach stresu biotycznego – beta tubuliny i cyklofiliny. Takie prace metodyczne są często niedoceniane, a w praktyce niezwykle przydatne, ponieważ ułatwiają dalsze badania transkryptomiczne. Wykazanie wysokiego poziomu ekspresji genu kodującego prekursor peroksydazy 72 w odpowiedzi na inokulację oraz jego rola w mechanizmach odpornościowych potwierdzają zarówno spójność, jak i trafność wyborów doktorantki. Dodatkowe badania transkryptomiczne potwierdziły wyniki analiz markerowych i ekspresyjnych, co stanowi mocny dowód wiarygodności całości opracowania.

Podsumowując, rozprawa mgr Aleksandry Sobiech jest dziełem wartościowym, łączącym interdyscyplinarne podejście z zastosowaniem nowoczesnych metod i praktycznymi implikacjami dla hodowli kukurydzy. Autorka wykazała się samodzielnością, szeroką wiedzą i umiejętnością krytycznej analizy. Praca napisana jest poprawnie i jasno dla czytelnika mimo iż nie udało się ustrzec przed drobnymi błędami jak tłumaczenie wyrażenia ‘Heatmap’ na ‘mapę ciepła’(str 76,78) zamiast ‘mapy cieplnej’, ‘elektrofonogramy’ (str 62) czy użycie określenia „sucha i ciepła pogoda” i „przymrozki się opóźniły(” str 28). Zasygnalizowane wyżej uwagi krytyczne nie podważają wartości rozprawy, lecz wskazują kierunki, w których można by ją jeszcze wzmocnić. Mogą one stanowić przedmiot ciekawych dyskusji podczas obrony.

Pytania do Doktorantki:

1. Jakiego modelu statystycznego użyto w analizie GWAS i czy zastosowano korektę na strukturę populacji? Jeżeli tak – w jaki sposób została ona przeprowadzona?
2. Które typy markerów (SNP, silicoDArT, pełny zestaw DArT) zostały wykorzystane do oceny zróżnicowania genetycznego i dlaczego zastosowano dystans Nei, który nie jest optymalny dla SNP?



KATEDRA GENETYKI, HODOWLI ROŚLIN I NASIENNICTWA

3. Spośród ponad 4000 markerów istotnych wybrano 26 do dalszych badań. Jakże były kryteria selekcji tej liczby i czy porównywano te wyniki z danymi literaturowymi
4. Czy rozważano dodanie do analiz wykresów QQ plot, które mogłyby ułatwić ocenę poprawności przeprowadzonych testów asocjacyjnych?
5. Proszę również o wyjaśnienie zdania z rozdziału Streszczenie : „Genotypy pochodzące z tej samej firmy hodowlanej charakteryzowały się podobnymi wzorcami ekspresji, co sugeruje, że mogą się różnić pod względem pochodzenia”. Zdanie to budzi moje wątpliwości.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Aleksandry Sobiech w pełni spełnia warunki stawiane pracom doktorskim określone ustawowo, a jej autorka zasługuje na nadanie stopnia doktora w dziedzinie Nauk Rolniczych, w dyscyplinie Rolnictwo i Ogrodnictwo. Wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnioskuje również o wyróżnienie pracy doktorskiej ze względu na jej bardzo wysoką wartość naukową.


Prof. dr hab. inż. Kamila Nowosad