

Rzeszów, 23 września 2014 r.

dr hab. inż. Mirosław Tyrka
Katedra Biochemii i Biotechnologii
Politechnika Rzeszowska im. I. Łukasiewicza
Ul. Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Iwony Wąsek
pt.: „Identyfikacja rejonów genomu (QTL) i markerów związanych z mrozoodpornością
pszenżyta (*xTriticosecale* Wittm.)”

wykonanej w Zakładzie Biologii Komórki i Genetyki Wydziału Geograficzno-Biologicznego pod opieką promotorską Prof. dr hab. Marii Wędzony i Dr inż. Magdaleny Szechyńskiej-Hebdy

Podjęte przez mgr Iwonę Wąsek badania obejmują złożony, interdyscyplinarny problem z zakresu tolerancji pszenżyta na niskie temperatury i genetyki cech ilościowych. Podjęta tematyka jest aktualna szczególnie w aspekcie zmiennych warunków klimatycznych w Polsce a przeprowadzone badania mają duże znaczenie poznawcze i aplikacyjne. W pracy wykorzystano zestaw 92 linii podwojonych haploidów uzyskanych z mieszańca F1 odmian ‘Hewo’ i ‘Magnat’. Zalety linii DH zostały w pełni wykorzystane w wykonanych badaniach do przeprowadzenia dokładnych, kilkukrotnych testów fenotypowych, stanowiących podstawę rzetelnej identyfikacji loci cech ilościowych (QTL).

Rozprawa doktorska liczy 141 stron i ma strukturę typową dla prac badawczych. Kolejne rozdziały zawierają: wstęp (23 strony), cel pracy zakończony właściwie postawioną hipotezą badawczą, liczący 11 stron opis materiałów i metod, omówienie wyników (39 stron) oraz rozbudowaną i ciekawą dyskusję (23 strony). Pracę kończą właściwie sformułowane wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz obejmujący 32 strony spis literatury zawierający 285 pozycji i 8 źródeł internetowych.

Tytuł właściwie oddaje zawartość pracy jednak można rozważyć, czy nie jest zbyt ogólnie sformułowany gdyż właściwie praca wyjaśnia uwarunkowania genetyczne mrozoodporności w puli genowej ograniczonej dwoma odmianami pszenżyta. Rozdział „Wstęp” zawiera przegląd literatury podzielony logicznie na trzy podrozdziały wprowadzające w specyfikę gatunku, poruszanego stresu oraz metod stosowanych do identyfikacji QTL-i.

Wstęp jest napisany w przystępny i zrozumiały sposób, autorka wspomaga się syntetycznym uporządkowaniem informacji na temat uwarunkowań genetycznych aklimacji do niskich temperatur i wybranych systemów markerowych w formie tabel. W podrozdziale 1.3. „Narzędzia molekularne i ich zastosowanie w hodowli roślin” doktorantka pisze, że „w nowoczesnej hodowli najczęściej wykorzystuje się metody tradycyjne w połączeniu z dostępnymi mapami genetycznymi ...” chciałem prosić o rozwinięcie zagadnienia możliwości wykorzystania markerów opracowanych na podstawie dwurodzicielskich populacji mapujących w szerszym tle genetycznym i przybliżenie przykładowych metody identyfikacji markerów wydajnych w szerokim tle genetycznym.

W dalszej części wstępu (str. 22) przy omawianiu kolejnych etapów konstrukcji mapy genetycznej Doktorantka używa sformułowania „analiza produktów pod kątem obecności sekwencji markerów” - chciałem prosić o wyjaśnienie: czy wszystkie markery wymagają informacji o sekwencji DNA? Czy specyficzność sekwencyjna stosowanych starterów gwarantuje uzyskanie specyficznego produktu (szczególnie u poliploidów) i w jaki sposób można sprawdzić specyficzności uzyskanej sekwencji?”

Dalej we wstępie (str.23) czytamy: „Jednak wartość LOD może zostać ustalona na niższym poziomie w celu otrzymania większej liczby sprzężeń” to stwierdzenie jest nie jasne ponieważ jeśli „liczbę sprzężeń” odniesiemy do liczby grup sprzężeń to wydzielanie grup przy niższym LOD zwykle wiąże się z redukcją ich liczby, oraz wzrostem liczby markerów w obrębie grup sprzężeń. Niewielkich nieścisłości można się doszukać w Tabeli 2 (str 25). Sekwencje mikrosatelitarne są moim zdaniem zdefiniowane zbyt wąsko. Pomimo, że faktycznie najczęściej są to powtórzenia 1-4 nukleotydowe to jednak zakres powinien być zwiększony do 6 nukleotydów. Dalej na stronie 27 stwierdzono, że „Markery zastosowane w mapowaniu danej populacji dzielą ją na grupy w zależności od obecności lub braku locus markera” chodzi raczej o „allel” markera. **Całość wstępu jest napisana bardzo starannie a wspomniane wyżej nieprecyzyjne stwierdzenia nie utrudniają w żadnym stopniu zrozumienia treści tego rozdziału. Doktorantka w wyczerpujący i rzeczowy sposób wprowadziła w tematykę pracy.**

W kolejnym rozdziale „Materiał i metody” scharakteryzowano materiał roślinny, mapę genetyczną oraz opisano szczegółowo metodykę wykonywanych testów polowo-laboratoryjnych i pomiarów fizjologicznych. **Wykorzystany w pracy materiał jest bardzo wartościowy, a metody badań genetycznych i fizjologicznych należą do najnowszych narzędzi badawczych.** Przy opisie testów polowo-laboratoryjnych jedynie blok I nie jest przypuszczalnie właściwie opisany (str.37) bo podano kolejność linii dla jednego powtórzenia.

Metodyka przeprowadzonych badań nie budzi jednak żadnych zastrzeżeń, a w kolejnym rozdziale „wyniki” przedstawiono wartości odchyień dla wszystkich obiektów.

W wyniku prowadzonych badań uzyskano duże ilości danych zebranych w 13 wykresach i 16 tabelach. Przy przygotowaniu pracy do druku, wskazane mogą być obliczenia odziedziczalności poszczególnych cech. Równocześnie, **występowanie powtarzalnych (pomiędzy seriami) efektów dla markerów zidentyfikowanych metodą SMA świadczy o wysokiej jakości uzyskanych wyników. Omawiane wyniki dotyczące lokalizacji QTL dla sprawności fotosyntetycznej fluorescencji i integralności membran po przemrożeniu mają charakter pionierski.**

W dalszej części omawianych wyników zauważyłem, że w tabeli 7 (na str. 51) brakuje QTL-i dla chromosomu 5R i markerów żytnich. W podrozdziale 4.4.2 nt. analizy porównawczej efektów, należy rozważyć, czy nie byłoby wskazane porównać rozmieszczenia QTL-i uzyskanych metodą CIM (które są zaznaczone tylko gwiazdkami) a nie tylko SMA.

Uzyskane przez doktorantkę wyniki są przedmiotem usystematyzowanej dyskusji. W podrozdziale 5.3. dyskusji nt. genetycznej kontroli mrozoodporności (na stronie 86 wiersz 10 od góry) doktorantka stwierdza: „wydaje się, że chromosomy z grupy 3 i 6 nie niosą ze sobą genów związanych z mrozoodpornością” co jest dość ryzykownym stwierdzeniem tym bardziej, że dalej (na stronie 94) z dyskusji wynikało że „nie wszystkie mechanizmy zostały wskazane”.

W dalszej części dyskusji (strona 83. akapit 2) czytamy: „Jednak szczegółowe porównywanie poszczególnych map genetycznych dla różnych gatunków zbóż nie jest możliwe ze względu na dużą specyficzność fizjologicznych i molekularnych czynników odporności na mróz w stosunku do konkretnej puli genowej”. To jest trochę niejasne i pewnie chodziło nie o porównanie map genetycznych tylko lokalizacji QTL-i, bo przecież dzięki syntenii istnieje możliwość porównywania map genetycznych między sobą. Dalej autorka wskazuje na czynniki takie jak typ zastosowanego markera, rozmieszczenie markerów w obrębie genomu, różnice w długości map jako utrudnienie w porównywaniu map. Czynniki wskazane przez doktorantkę faktycznie utrudniają porównania ale opracowane mapy konsensusowe integrujące różne systemy markerowe pozwalają często na robienie tego typu analiz.

Wymienione wyżej nieprecyzyjne stwierdzenia, z trudem udało się wyszukać w rozbudowanej i bardzo dojrzałe napisanej dyskusji. W rozdziale tym chciałbym wyróżnić podrozdział 5.5. nt. analizy związku mrozoodporności ze sprawnością fotosyntetyczną, w którym szczególnie podobało mi się wyjaśnienie jak zmiany wybranych parametrów fizjologicznych przekładają się na reakcję mrozoodporności. Dyskusja została napisana

w sposób przejrzysty, autorka stawia hipotezy badawcze (str.97) i ma świadomość, że uzyskane markery wymagają walidacji w szerszym tle genetycznym (str. 100).

Rozprawę doktorską Pani Iwony Wąsek należy uznać za samodzielne rozwiązanie problemu badawczego przy użyciu adekwatnej i nowoczesnej metodyki, co jest warunkiem ustawowym stawianym rozprawom doktorskim. W pracy znalazłem kilka błędów edytorskich i interpunkcyjnych, które w żadnym stopniu nie utrudniają zrozumienia treści.

Biorąc pod uwagę wszystkie aspekty przedstawionej mi do recenzji pracy stwierdzam, iż spełnia ona wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim w Artykule 13 Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki. W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Iwony Wąsek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, z uwagi na nowatorstwo zaprezentowanych wyników wnoszę o wyróżnienie pracy.

/Miroslaw Tyrka/

