

dr hab. inż. Mirosław Tyrka, prof. PRz
Zakład Biotechnologii i Bioinformatyki
Politechnika Rzeszowska im. I. Łukasiewicza
Al. Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Cyganek
pt. „Identyfikacja loci cech ilościowych (QTL) warunkujących wysokość plonu
i zawartość cukrów pszenicy w warunkach suszy glebowej”**

wykonanej w Instytucie Fizjologii Roślin im. *Franciszka Górskiego* Polskiej Akademii Nauk
pod opieką promotora dr hab. inż. Ilony Czyczyło-Myszy i promotora pomocniczego
dr Michała Dziurki

Przedmiot rozprawy oraz znaczenie naukowe i aplikacyjne

Wraz ze zmianami klimatu i postępującym ociepleniem, badanie mechanizmów reakcji na suszę u cennych gospodarczo roślin, stojących u podstaw wyżywienia ludzkości, nabiera szczególnego znaczenia. Podejmowana tematyka jest ważna ze względu na rolę pszenicy jako źródła kalorii oraz skalę problemu suszy, która dotyczy 42% ogólnoswiatowej powierzchni upraw tego gatunku. Poznanie uwarunkowań genetycznych kształtujących tolerancję na suszę może przyczynić się do uzyskania odmian, które będą reagowały łagodniejszym spadkiem plonu w warunkach stresu.

Badania przeprowadzono na populacji linii podwojonych haploidów CSDH pszenicy heksaploidalnej cechującej się dużą zmiennością cech decydujących o tolerancji na suszę i cechy agronomiczne, co jest najistotniejsze z punktu widzenia osiągnięcia celów postawionych w pracy. Zidentyfikowane w przedstawionej pracy markery z rejonów QTL mogą, po przekształceniu na system detekcji polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) i walidacji, znaleźć zastosowanie w selekcji genotypów tolerancyjnych na stres suszy. Zaprezentowane wyniki wskazują na różne mechanizmy adaptacji pszenicy do suszy, szczególnie w obszarze zmian w poziomie cukrów wnosząc nową wiedzę w zrozumienie tego procesu.

Forma pracy i przegląd literatury

Rozprawa doktorska Pani Katarzyny Cyganek ma formę monografii (180 stron) i liczy 7 rozdziałów. Tytuł jest zgodny z treścią pracy. Kolejne rozdziały poprzedzone są wykazem

skrótów. Praca zawiera wprowadzenie (16 stron), w którym omówiono ogólnie znaczenie pszenicy w kraju i na świecie oraz poruszono zagadnienia związane z jej pochodzeniem i wykorzystaniem. Dalej, wprowadzono w tematykę stresu u pszenicy ze szczególnym uwzględnieniem suszy glebowej i mechanizmów obronnych. Szczegółowo i wnikliwie omówiono, najważniejsze dla przeprowadzonych badań, zagadnienia dotyczące roli cukrów w plonowaniu roślin oraz adaptacji do stresu suszy. Wprowadzenie obejmuje również tematykę dotyczącą metodyki analizy QTL oraz wykorzystania różnych narzędzi statystycznych do identyfikacji loci kształtujących składowe plonu i zawartość cukrów u roślin uprawnych.

Zaproponowane w przeglądzie markery do selekcji niestety utraciły już swoje znaczenie i nie są przydatne w praktycznej selekcji. Wyjątkiem mogą być markery SSR, od których ostatnio również się odchodzi w kierunku markerów SNP a szczególnie metodyki współzawodniczącego, specyficznego allelicznego PCR (KASP). Należy również pamiętać, że efekty zidentyfikowane w populacji dwu-rodzicielskiej nie muszą przekładać się na szerszą pulę genową i wymagają walidacji. Zatem precyzyjna analiza QTL może pozwolić na identyfikację genów kandydujących, natomiast pełna ocena wartości poszczególnych alleli wymaga często walidacji na populacji linii reprezentujących szerszą pulę genetyczną, wykorzystywanej przez hodowców w celach praktycznych.

Pewna nieścisłość w rozdziale „Wprowadzenie” dotyczy również postępów w sekwencjonowaniu pszenicy. Złożony bioinformatycznie genom jest obecnie dostępny w bazach Ensembl Plants i WHEAT URGI. Całość wstępu jest napisana bardzo starannie. Doktorantka w wyczerpujący i rzeczowy sposób wprowadziła w tematykę pracy.

Cele rozprawy i zastosowane metodyki badawcze

Rozprawa ma trzy cele poznawcze i dwa aplikacyjne. Opis materiałów i metod (6 stron) zawiera wszystkie niezbędne informacje, w tym charakterystykę materiałów, odniesienie do mapy genetycznej, opis przebiegu doświadczenia i wykonanych pomiarów wraz z obróbką statystyczną danych oraz dokumentacją fotograficzną. Materiał pod względem liczebności jest wystraszający do określenia statystycznie istotnych efektów genetycznych determinujących badane cechy. Prawidłowość opracowania statystycznego danych nie budzi żadnych zastrzeżeń.

Najważniejsze uzyskane wyniki

Rozdział „Wyniki” stanowi obszerną objętościowo część pracy (83 strony) i zawiera bogatą dokumentację graficzną (23 rysunki) oraz tabelaryczną (15 tabel). Uzyskane dane omówiono w systematyczny sposób począwszy od przebiegu warunków pogodowych,

podstawowej statystyki badanych elementów składowych plonu oraz zawartości cukru w liściu flagowym, dokłosiu i kłosie, czyli organach które mają kluczowe znaczenie w odżywianiu ziarniaków. W dalszej części na podstawie korelacji określono wzajemne zależności pomiędzy badanymi cechami. Olbrzymia ilość analizowanych danych utrudnia interpretację w grupach roślin kontrolnych i poddanych stresowi suszy.

W dalszej części Doktorantka rzetelnie, według przyjętego schematu omawia zidentyfikowane QTL elementów składowych plonu i kontrolujące zawartość badanych cukrów. Przyjęty sposób opisu QTL zawiera kilka poziomów informacji i uwzględnia dane uzyskane metodą CIM przy dwóch poziomach istotności uzupełnione analizą SMA. Wszystkie te informacje zostały uporządkowane w tabelach. Na pochwałę zasługuje ogromny nakład pracy jaki Doktorantka włożyła w uzyskanie danych i ich opracowanie statystyczne. Dokumentacja graficzna uzyskanych QTL jest również bogata w informacje dotyczące typu uzyskiwanych markerów a wybrany sposób omówienia tj. układ grupami homeologicznymi jest korzystny i pozwala na identyfikację efektów wynikających z syntenii.

Szczegółowa analiza QTL na poziomie poszczególnych cech stworzyła podstawy do syntetycznego opracowania danych, co znalazło swoje odzwierciedlenie w postaci badania kolokalizacji uzyskanych QTL i identyfikacji stabilnych QTL. Analizy te doprowadziły do identyfikacji 11 najważniejszych regionów rozmieszczonych na 7 chromosomach pszenicy, decydujących o związkach pomiędzy analizowanymi cechami. Wybrane regiony obejmują stosunkowo rozległe obszary chromosomów – co będzie utrudniało zaproponowanie odpowiednich genów kandydujących. W końcowym etapie omówienia wyników wybrano również 15 chromosomów zawierających QTL o najistotniejszym wpływie na badane cechy.

Rozdział 5 obejmuje dyskusję wyników (41 stron) podzieloną na 4 główne części. W pierwszym podrozdziale najważniejsze wyniki uzyskane przez Doktorantkę zostały przedyskutowane na tle najnowszej literatury. Dyskusja zawiera syntetyczne konkluzje weryfikowane w odniesieniu do wyników innych grup badawczych i świadczy o szerokiej wiedzy Doktorantki. Potwierdzenie trafności wskazanych mechanizmów odpowiedzialnych za zmiany zawartości cukrów może wymagać dodatkowych doświadczeń polegających na pomiarach poziomów ekspresji genów związanych z aktywnością tych mechanizmów. Dyskusja jest napisana w sposób dojrzały i doktorantka sięga po przykłady z grup odległych taksonomicznie.

W drugiej części dyskusji analizowane są aspekty doświadczalne, metodyczne i interpretacyjne analizy QTL. W kolejnym podrozdziale uzyskane w pracy QTL są odnoszone do wyników innych autorów na poziomie chromosomów, co właściwie pozwala dostrzec złożoność procesów kształtujących zmienność badanych cech fenotypowych i podkreśla

znaczenie podjętej tematyki. Z praktycznego punktu widzenia najbardziej interesujące są jednak dane przedstawione w czwartej części dyskusji. Doktorantka wybrała najważniejsze praktycznie efekty przypisane do markerów i szczegółowo porównała z dostępnymi danymi literaturowymi – ta część dyskusji prowadzi do identyfikacji nowych QTL-i lub zmiany znaczenia QTL-i zidentyfikowanych wcześniej przez innych autorów. Wytypowane markery mogą wymagać dostosowania do nowoczesnych wysokowydajnych systemów genotypowania i selekcji. Całość dyskusji jest zakończona rzeczowym podsumowaniem. Praca jest napisana starannie, a błędy edytorskie i w cytowaniach są nieliczne.

Wniosek końcowy

W pracy na przykładzie populacji CSDH, zbadano gruntownie genetyczne uwarunkowania adaptacji pszenicy do stresu suszy w oparciu o zawartość cukrów w trzech organach asymilacyjnych w odniesieniu do zmian czterech elementów składowych plonu pszenicy. Uzyskano nowe, unikalne wyniki o dużej wartości naukowej i aplikacyjnej.

Rozprawę doktorską Pani Katarzyny Cyganek należy uznać za samodzielne rozwiązanie problemu badawczego przy użyciu nowoczesnej metodyki, co jest warunkiem ustawowym stawianym rozprawom doktorskim. Praca jest oryginalnym opracowaniem naukowym i świadczy o dużej wiedzy teoretycznej Doktorantki.

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 (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) oraz w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2018 r. poz. 261). W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Cyganek do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie pracy.

/Miroslaw Tyrka/

