

Warszawa, 17.05.2017

Recenzent:

prof. dr hab. Monika Rakoczy-Trojanowska

Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Smyda-Dajmund pt. "Charakterystyka somatycznych mieszańców *Solanum michoacanum* (+) *S. tuberosum* i autofuzantów 4x *S. x michoacanum* oraz wykorzystanie ich do rozszerzenia puli hodowlanej ziemniaka uprawnego *S.tuberosum* L."

Rozprawa doktorska mgr **Pauliny Smyda-Dajmund** obejmuje cykl trzech artykułów naukowych opublikowanych w latach 2013 – 2017 oraz obszernego opisu, na który składają się: Streszczenie, Przegląd literatury, Cel badań, Materiał i metodyka, Omówienie wyników, Podsumowanie uzyskanych wyników, Obserwacje i wnioski, Spis literatury. Badania dotyczą uzyskiwania i wielopłaszczyznowej charakterystyki mieszańców somatycznych w rodzaju *Solanum*.

Doktorantka zdecydowała się na preferowaną obecnie formę rozprawy doktorskiej, tzn. cykl prac naukowych opatrzonych komentarzem. Trzy prace naukowe wchodzące w skład opracowania to spójny tematycznie zbiór opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych, określonych przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki; spełniają zatem wymóg sformułowany w obowiązującej Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Wszystkie zamieszczono w czasopismach notowanych w bazie Journal Citation Reports; ich łączny współczynnik wpływu wynosi 7,183.

W pierwszej publikacji ("Development of somatic hybrids *Solanum* × *michoacanum* Bitter. (Rydb.) (+) *S. tuberosum* L. and autofused 4x *S. x michoacanum* plants as potential sources

of late blight resistance for potato breeding”) doktorantka opisała wyniki badań nad somatyczną hybrydyzacją dwóch gatunków *Solanum*: *S. × michoacanum* i *S. × tuberosum*, których głównym celem było wprowadzenie odporności na zarazę ziemniaka wywoływaną przez *Phytophthora infestans*. Oprócz mieszańców, których mieszańcowość potwierdzono metodami molekularnymi (markery SSR, CAPS i RAPD) uzyskano także autofuzanty 4x *S. × michoacanum*. Wśród nich trzy mieszańce oraz ponad 100 form autofuzantów wykazywało odporność na chorobę. Wysoka wartość naukowa pracy wynika zarówno z zastosowania bardzo wymagającej i wyrafinowanej metody biotechnologicznej, jaką jest hybrydyzacja somatyczna oraz z uzyskanego wyniku w postaci mieszańców i autofuzantów odpornych na *P. infestans*. Jednak zarówno w przypadku mieszańców, jak i autofuzantów poziom odporności był niższy niż u *S. × michoacanum*. Niemniej, formy o odporności na zarazę na poziomie ok. 7.0 mogą być wykorzystane jako źródło tej cechy w hodowli ziemniaka.

Druga publikacja pt.: "Genetic composition of interspecific potato somatic hybrids and autofused 4x plants evaluated by DArT and cytoplasmic DNA markers" dotyczy szczegółowej analizy molekularnej kompozycji genomów jądrowego (z uwzględnieniem każdego z 12 chromosomów) i cytoplazmatycznego międzygatunkowych mieszańców somatycznych między *S × michoacanum* i *S. tuberosum* oraz autofuzantów *S × michoacanum*. Wykorzystując markery molekularne DArT wykazano, że w mieszańcach są obecne markery obojga rodziców przy jednoczesnym braku niektórych markerów gatunkowo specyficznych, a u większości mieszańców występuje cytoplazma tylko jednego komponenta fuzji. Zmapowano również gen *Rpi-mich1* warunkujący odporność na *P. infestans*. Największe osiągnięcia tej pracy to, poza uzyskaniem mieszańców i autofuzantów *Solanum* odpornych na *P. infestans* efektywne zastosowanie systemu markerów DArT do scharakteryzowania molekularnej struktury produktów fuzji somatycznej.

W trzeciej pracy wchodzącej w skład rozprawy ("BC₁ and F₁ progeny from *Solanum × michoacanum* (+) *S. tuberosum* somatic hybrids, autofused 4x *S. michoacanum* and cultivated potato") mgr Smyda-Dajmund scharakteryzowała potomstwo BC₁ i F₁ ziemniaka uprawnego i mieszańców *Solanum × michoacanum* (+) *S. tuberosum* oraz autofuzantów 4x *S. michoacanum* pod kątem odporności na *Phytophthora infestans*. Najważniejszą konkluzją płynącą z tej publikacji jest stwierdzenie, że mieszańce somatyczne między *S. × michoacanum* a *S. tuberosum* i tetraploidalne autofuzanty *S. × michoacanum* mogą stanowić cenne źródło odporności na chorobę i w hodowli ziemniaka, szczególnie dwie rośliny pokolenia BC₁ charakteryzujące się, oprócz wystarczającej odporności na zarazę ziemniaka, również dobrym poziomem cech agronomicznych.

Badania opisane w trzech publikacjach składających się na rozprawę doktorską P. Smyda-Dajmund świadczą o konsekwencji i determinacji Doktorantki. Na uznanie zasługuje bardzo

duży zakres prac wymagający stosowania trudnych i niezwykle pracochłonnych metod badawczych.

Poza publikacjami, w skład rozprawy wchodzi również inne, wymienione wyżej rozdziały. Uważam, że są one zbyt obszerne, a niektóre fragmenty, szczególnie w rozdziale Materiał i metody - wręcz zbędne (wszystkie szczegóły zostały przecież opisane w publikacjach). Nie rozumiem idei rozdziału VIII – są tu elementy zarówno streszczenia, podsumowania, jak i wnioski. Rozdział ten powinien być skrócony przez eliminację fragmentów streszczenia i zatytułowany „Podsumowanie”, albo ograniczony tylko do wniosków i zatytułowany „Wnioski”.

Doktorantka nie uniknęła, dość licznych niestety, błędów, głównie o charakterze formalnym (niewłaściwe lub nieściśle nazewnictwo), ale również kilku błędów merytorycznych. Poniżej przytaczam kilka przykładów.

Błędy formalne i określenia nieprecyzyjne:

1. „*fuzja somatyczna a przewagę nad metodami genetyki klasycznej*” (str.16) – jak można porównywać technikę z dziedziną genetyki?
2. Co to znaczy „*dawka genomu*” (str. 18)
3. W przypadku nazw markerów najczęściej używa się skrótów, a objaśnienie podaje w nawiasie (str.18); podobnie w przypadku metod FISH i GISH (str.19)
4. Nie można użyć „*simple sequence repeats*” do analizy (str. 18); można natomiast użyć markery molekularne bazujące na loci mikrosatelitarnych (ang. simple sequence repeats) lub po prostu markery SSR.
5. Zupełnie niezrozumiałe jest stwierdzenie :” ... *na podstawie większej liczby niezależnych punktów genomu...*” w kontekście analizy z użyciem większej liczby typów markerów (str.19); Autorce chodziło chyba o analizę nakierowaną na różne rejony genomu.
6. Nie powinno się mówić o „*delecji całych chromosomów*” (str. 19), a o eliminacji; delecja to termin używany w przypadku ubytku części chromosomu (jeden z typów aberracji strukturalnych).
7. Doktorantka nadużywa terminu genotyp dla określenia rośliny, pojedynka, osobnika czy fenotypu (np. „...*otrzymano 697 genotypów...*”, „...*genotypy o ciemnofioletowym kolorze skórki...*”, „...*z 702 przetestowanych genotypów 25 osobników BC1 i pięć F1 wykazywało...*”, „...*dwa tetraploidalne genotypy...*” i wiele innych, podobnych przykładów złego użycia terminu genotyp. Zgodnie z definicją genotyp to, w

szerszym znaczeniu zespół genów danego osobnika warunkujących jego właściwości dziedziczne, a w węższym znaczeniu - układ alleli danego genu.

8. Dość dziwnie brzmi stwierdzenie, że „braki markerów były rozproszone w całym genomie” (wniosek 5).

Błędy merytoryczne

1. Nie można mówić o dominujących genach (str. 10), a o dominujących allelach.
2. Mikrospory to nie gamety (str.12), a zarodniki męskie, na terenie których rozwija się gametofit męski. Gamety to komórki plemnikowe/plemniki powstałe w wyniku podziału jądra generatywnego.
3. Mikrospory nie dzielą się mitotycznie (str. 13) – to ich jądro dzieli się mitotycznie na generatywne i wegetatywne, ale po tym podziale nie następuje cytokineza

Inne uwagi

1. Skoro w „Celu badań” przy dzikim gatunku podano wartość EBN – również przy gatunku uprawnym powinna znaleźć się taka informacja. Należałoby dodać krótką definicję EBN, a nie ograniczyć się jedynie do przetłumaczenia nazwy angielskiej.

3. Podsumowanie

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Pauliny Smyda-Dajmund stanowi zbiór prac o istotnym znaczeniu zarówno poznawczym, jak i w kontekście wykorzystania ich wyników w hodowli ziemniaka. Mimo pewnych, wskazanych wyżej błędów, najczęściej o charakterze formalnym uważam, że rozprawa doktorska spełnia wymogi stawiane tego typu opracowaniom i stawiam wniosek o dopuszczenie mgr Pauliny Smyda-Dajmund do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Oświadczam, że spełniony został wymóg art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

/prof. dr hab. Monika Rakoczy-Trojanowska/