

Dr. Hab. Paweł Czembor, prof. nadzw. IHAR-PIB  
Zakład Genetyki i Hodowli Roślin,  
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin –  
Państwowy Instytut Badawczy,  
Radzików, 05-870 Błonie

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Doroty Milczarek  
„Zastosowanie technik molekularnych w selekcji ziemniaka uprawnego  
na mątwiki (*Globodera* spp.)”**

Rozprawa doktorska mgr Doroty Milczarek została wykonana pod kierunkiem dr hab. Bogdana Flisa, prof. nadzw. IHAR-PIB w Zakładzie Genetyki i Materiałów Wyjściowych Ziemniaka IHAR-PIB, Oddział w Młochowie.

**Ocena problematyki badawczej**

Ziemniak uprawny (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) należy do jednych z najważniejszych roślin uprawnych na świecie. W Polsce w ostatnich dwóch dekadach areał uprawy ziemniaka znacząco zmalał z ok. 1,5 mln ha (1995 r.) do 267 tys. ha (2014 r.). Pomimo zmniejszenia powierzchni uprawy (obecnie ziemniak stanowi w strukturze powierzchni zasiewów 2,6%) jest on wciąż bardzo ważnym gospodarczo gatunkiem. Niestety, w znacznym stopniu plon bulw ziemniaka jest ograniczany przez czynniki abiotyczne i biotyczne.

W warunkach klimatu umiarkowanie chłodnego w tym również Polski, pasożytnicze nicienie glebowe z rodzaju *Globodera* (mątwiki) są przyczyną dotkliwych strat w uprawach ziemniaka. Do rodzaju *Globodera* zalicza się dwa gatunki: *G. rostochiensis* (mątwik ziemniaczany) i *G. pallida* (mątwik agresywny). *G. rostochiensis* odnotowano w Polsce po raz pierwszy w 1946, natomiast *G. pallida* został wyodrębniony z gatunku *G. rostochiensis* w 1973 roku na podstawie różnic morfologicznych pomiędzy wspomnianymi gatunkami. Jednym z kluczowych etapów cyklu życiowego tych nicieni jest wytwarzanie cyst zawierających jaja, których kilka sztuk w 1g gleby może być źródłem zauważalnych strat w plonie. Na glebach silnie porażonych, na których liczebność populacji jest wysoka, strata plonu może dochodzić do 80%. To właśnie cysta stanowi doskonałą ochronę przed wyschnięciem, niską temperaturą, uszkodzeniami mechanicznymi oraz barierę przed środkami chemicznymi używanymi do ich zwalczania. Z tego powodu ograniczanie występowania tych organizmów kwarantannowych w uprawach ziemniaka napotyka na wiele trudności. Skuteczne środki chemiczne, niestety charakteryzują się niską selektywnością i wysoką szkodliwością dla środowiska. W związku z tym, zaleca się stosowanie nematocydów tylko na małych powierzchniach lub w przypadku pojawienia się nowego patotypu. Najskuteczniejsze i najbezpieczniejsze dla środowiska jest odpowiednie zmianowanie z udziałem odmian odpornych. Wobec tego, wszelkie metody zmierzające do usprawnienia selekcji materiałów hodowlanych, które przyczyniają się do rejestracji nowych odpornych odmian są wielce pożądane. W ostatnich dziesięcioleciach, takie dodatkowe możliwości pojawiły się wraz z rozwijającymi się technologiami DNA, które obecnie są coraz bardziej skuteczne i efektywne ekonomicznie we wspieraniu hodowli roślin.

W prezentowanej rozprawie doktorskiej, Autorka zajęła się zbadaniem możliwości wykorzystania markerów molekularnych do usprawnienia selekcji form ziemniaka uprawnego odpornego na mątwiki. Wartość poznawcza zrealizowanych prac jest o tyle cenna, że uzyskano bardzo praktyczną wiedzę, która w sposób efektywny może być natychmiast wykorzystana w hodowli ziemniaka. W publikacjach naukowych dotyczących identyfikacji markerów molekularnych sprzężonych z odpornością roślin, po ich weryfikacji przez innych badaczy, bardzo często okazuje się, że opisywany marker jest specyficzny dla danej populacji mapującej, sprzężenie marker-gen jest zbyt słabe lub warunki detekcji markera wymagają zastosowania bardziej zaawansowanych technik molekularnych. Z tego powodu, uznaję za wartościowy i poznawczo uzasadniony wybór tematyki badań, jego realizację oraz uzyskane wyniki zawarte w przedłożonej do oceny rozprawie doktorskiej.

### **Formalna analiza rozprawy**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana zgodnie z wymogami stawianymi tego typu opracowaniom. Rozprawa obejmuje 134 stron tekstu, 33 tabele, 16 rysunków i 6 zdjęć. Całość pracy została podzielona na 8 głównych rozdziałów, kolejno: 1. Wstęp; 2. Cel pracy; 3. Przegląd literatury; 4. Materiał i metody; 5. Wyniki; 6. Dyskusja; 7. Podsumowanie i wnioski; 8. Spis literatury. Ponadto, w pracy zamieszczono trzy dodatki informujące o warunkach pogodowych w trakcie prowadzenia doświadczeń polowych i ich nawożenia oraz wynikach analiz statystycznych. Na początku pracy doktorskiej zamieszczono streszczenie w języku polskim i angielskim.

Układ rozprawy doktorskiej nie budzi większych zastrzeżeń, postawiona hipoteza badawcza, w pełni znajduje swoje uzasadnienie w treści poszczególnych rozdziałów koniecznych do jej weryfikacji. Aczkolwiek, może bardziej właściwym byłoby postawienie hipotezy badawczej po rozdziale Przegląd literatury, w którym czytelnik zapoznaje się dogłębnie z analizą literatury dotyczącą problematyki prowadzonych badań. Taki układ pracy, jeszcze bardziej wzmocniłby u czytelnika przekonanie o słuszności postawionej hipotezy.

Treść pracy koresponduje z jej tytułem. Założone cele badawcze zostały zrealizowane. Bibliografia jest obszerna i obejmuje 158 pozycji literaturowych, w tym ponad 90% opracowań anglojęzycznych. Co więcej, znakomita większość (65%) to prace opublikowane po roku 2000, świadczy to o wykorzystaniu w pracy literatury zawierającej stosunkowo nowe dane.

Praca jest napisana w sposób zwięzły, przejrzysty i czytelny bez zbędnych słów, zwrotów i kwiecistości. Wkomponowane w tekst pracy zdjęcia, rysunki i tabele dobrze uzupełniają i wyjaśniają omawiane kwestie. W pracy znaleziono bardzo niewiele błędów redakcyjnych, co świadczy o dużej staranności w przygotowaniu pracy.

### **Merytoryczna ocena pracy**

W krótkim **Wstępie** pracy zostały przedstawione ogólne informacje o ziemniaku, szkodliwości mątwików, sposobach ich zwalczania lub ograniczania ich występowania oraz możliwości jakie stwarzają technologie DNA w selekcji materiałów hodowlanych. Stąd w sposób logiczny i uzasadniony pojawia się **hipoteza badawcza** o wykorzystaniu technik molekularnych w hodowli ziemniaka uprawnego, które uproszą charakteryzowanie form mających geny odporności na mątwiki przyczyniając się tym samym do usprawnienia selekcji form odpornych. Postawioną hipotezę, Autorka postanowiła zweryfikować poprzez realizację właściwie postawionych szczegółowych **celów badawczych**.

Rozdział **Przegląd literatury** liczący 16 stron, został podzielony na trzy zasadnicze obszary tematyczne. W pierwszym, Autorka charakteryzuje pasożytnicze nicienie glebowe *Globodera* spp. pod względem ich systematyki, występowania, cyklu życiowego, objawów żerowania i sposobów zwalczania. Podkreśla niezmiernie trudną walkę z patogenem przy użyciu środków chemicznych, a jednocześnie wskazuje na metody agrotechniczne z wykorzystaniem odmian odpornych jako najskuteczniejsze i bezpieczne dla środowiska.

W kolejnej części rozdziału, Autorka omawia odporność roślin ziemniaka na mątwiki z wyróżnieniem mechanizmów i źródeł odporności. Szczegółowo opisano koncepcję funkcjonowania mechanizmów reakcji nadwrażliwości (HR, hypersensitive reaction) na poziomie molekularnym i jej rolę w zwalczaniu mątwika oraz poznane dotychczas mechanizmy interakcji ziemniak-mątwik. Charakteryzując źródła odporności roślin ziemniaka na mątwiki wskazano na brak genów odporności w puli genetycznej ziemniaka uprawnego *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*, a jedynie ich występowanie w dzikich gatunkach *Solanum*. Jak dotąd zidentyfikowano 20 genów odporności, których źródłem są *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*, *S. vernei*, *S. spegazzini*, *S. sparsipilum*, *S. tarijense* i klon AM78-3778.

W trzeciej części Przeglądu literatury, Autorka charakteryzuje selekcję form odpornych na mątwiki w programach hodowlanych ziemniaka uprawnego. Wskazuje na trudności programów hodowlanych, które w głównej mierze sprowadzają się do braku możliwości wykorzystania w szerszym zakresie dostępnej puli form dzikich (z powodu barier krzyżowalności), konieczności wykonywania bardziej złożonych analiz genetycznych w porównaniu do gatunków diploidalnych i selekcji materiałów pod względem ponad 50 cech agronomicznych przy stosunkowo długim cyklu hodowlanym. Autorka słusznie zauważa, że należy wprowadzać wszelkie techniki, które skrócą i podniosą efektywność procesu selekcji i zalicza do nich technologie DNA. W tej części pracy, omawia szczegółowo różnorakie techniki wykrywania polimorfizmu DNA, począwszy od polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP), poprzez techniki oparte o reakcje łańcuchową polimerazy (PCR) i ich warianty i skończywszy na opisie analiz w czasie rzeczywistym (Real Time PCR) oraz multipleks PCR.

Rozdział Przegląd literatury ma przejrzystą, zwartą i logiczną konstrukcję, a zawarte w nim informacje są potrzebne do właściwej analizy przedstawionych w rozprawie wyników. Moim zdaniem, tytuł podrozdziału 3.3.3 „Techniki oparte na markerach molekularnych” jest niewłaściwy, ponieważ przedstawiono w tej części pracy zupełnie coś odwrotnego, tzn. opisano markery molekularne oparte na różnych technikach. Ponadto, znacznie prościej byłoby opatrzenie tego podrozdziału tytułem np. „Charakterystyka markerów molekularnych”. Szkoda, że Autorka nie uzupełniła opisu metod ważnych z punktu widzenia rozwoju analiz molekularnych ziemniaka o najnowsze technologie DNA takie jak mikromacieże czy sekwencjonowanie następnej generacji.

Z przeglądu literatury wynika, że dzikie gatunki *Solanum* są źródłem wielu ważnych cech agronomicznych, ale wprowadzenie ich do puli genetycznej ziemniaka uprawnego nastręcza wiele kłopotów. W tym kontekście ważnym zjawiskiem, które należy brać pod uwagę jest zaburzona rekombinacja materiału genetycznego obcych gatunków. Jest to szczególnie widoczne przy w próbach mapowania cech lub tworzenia map genetycznych w oparciu o populacje pochodzące z krzyżowań międzygatunkowych. W związku z tym, będę prosił Doktorantkę w trakcie obrony rozprawy o charakterystykę rekombinacji genetycznej w mieszańcach międzygatunkowych w rodzaju *Solanum*.

Rozdział **Materiały i metody** liczy 16 stron i w pierwszej jego części Autorka wymienia wykorzystany w pracy materiał roślinny, który stanowi zestaw odmian ziemniaka, zaawansowane rody hodowlane oraz genotypy z niselekcjonowanych potomstw pochodzących z krzyżowań rodów i odmian. Wśród 78 odmian ziemniaka, 61 wyszczególnia jako odporne na różne patotypy mątwika ziemniaczanego i mątwika agresywnego o częściowo znanym źródle pochodzenia tej odporności. Następnie, Autorka charakteryzuje 139 wyselekcjonowanych (pod względem niektórych cech agronomicznych) zaawansowanych rodów hodowlanych (z udziałem odpornego komponentu rodzicielskiego) oraz niselekcjonowane populacje o przewidywanej zwiększonej frekwencji genu *H1*, dla których wyprowadzono 4 populacje testowe mające na celu potwierdzenie uzyskania form typu dupleks pod względem wspomnianego genu.

W drugiej części rozdziału, Autorka omawia zastosowane metody i narzędzia badawcze. Skrupulatnie opisuje laboratoryjną ocenę odporności roślin ziemniaka na mątwiki. Obszerną część rozdziału poświęcono metodom molekularnej analizy (głównie w oparciu o PCR) występowania wybranych genów odporności, ich możliwości równoczesnej detekcji (multipleks PCR) oraz ustalenia dawki genu *H1* (PCR ilościowy). Autorka podaje również opis oceny cech użytkowych wykonanych dla zaawansowanych rodów hodowlanych oraz części klonów z populacji niselekcjonowanych. Na końcu rozdziału przedstawiono wykorzystane w pracy metody statystyczne.

W rozdziale **Materiały i metody** w sposób wyczerpujący opisano materiał roślinny wykorzystany w pracy i jest wystarczający do realizacji założonych celów badawczych. Szczegółowa charakterystyka wykorzystanych metod badawczych pozwala na powtórzenie przeprowadzonych badań w innym ośrodku badawczym. Co więcej, przedstawiony schemat prowadzonych badań znacznie ułatwia orientację jakie metody badawcze zostały zastosowane do analizy poszczególnych grup materiału roślinnego. Niemniej jednak mam kilka uwag. Ponieważ zasadniczym celem pracy jest zastosowanie markerów molekularnych do usprawnienia selekcji materiałów roślinnych uważam, że w podrozdziale 4.2.2.1 Genetyczna analiza odporności (str. 39-42) przy charakterystyce zastosowanych markerów molekularnej brakuje kluczowej informacji o sprzężeniu genetycznym (lub fizycznej lokalizacji) markera względem typowanego genu odporności. Ma to istotne znaczenie dla interpretacji uzyskanych wyników i dalszej dyskusji. Następnie, dlaczego przy optymalizacji warunków reakcji multipleks (str. 43), nie dołączono opcji o zróżnicowanym stężeniu  $MgCl_2$  w buforze reakcji skoro wiadomo, że jony magnezu w głównej mierze są kofaktorem polimerazy, który warunkuje wydajne tworzenie kompleksu enzym-matryca i promowanie wydajnej elongacji. Może warto było wymienić odczynniki f-my Novazym, w których bufor reakcji (w mieszaninie reakcyjnej) już zawiera jony magnezu na ustalonym poziomie (2,5mM) na taki zestaw odczynników, w którym każdy z kluczowych komponentów (w tym  $MgCl_2$ ) można było samemu zmieniać, a co za tym idzie bardziej wszechstronnie zbadać możliwości optymalizacji reakcji.

Najobszerniejszym rozdziałem pracy są **Wyniki**, które Autorka przedstawiła na 45 stronach, wydzielając stosowne podrozdziały odpowiadające trzem zasadniczym kierunkom pracy, tj. testy laboratoryjne odporności roślin na mątwiki, analizy molekularne oraz ocena cech agronomicznych wybranych materiałów. Nie mam uwag do tego rozdziału, jest on bogato ilustrowany zdjęciami, wykresami i tabelami, które dobrze wkomponowują się w tekst i właściwie uzupełniają narrację omawianych wyników.

Wykonane testy odporności na mątwika pozwoliły na określenie odporności na poszczególne patotypy w zaawansowanych (selekcjonowanych) rodach hodowlanych. Analiza segregacji odporności na patotyp Ro1 (warunkowany przez gen *H1*) pięciu niselekcjonowanych populacji wykazała występowanie genu *H1* w formie simpleks. W badaniach wykazano, że spośród badanych

12 markerów molekularnych (sprzężonych z 7 genami odporności) jedynie TG689 i 57R, Gro1-4 oraz SPUD1636 są wysoce skuteczne w typowaniu genów odporności, odpowiednio *H1*, *Gro1-4* i *Gpa5-like*. Aczkolwiek nie zanotowano 100% zgodności oceny fenotypowej i molekularnej.

Oceniono przydatność metody multipleks PCR do równoczesnego wykrywania markerów sprzężonych z trzema genami odporności *H1*, *Gro1-4* i *Gpa5-like*. Wykazano, że po optymalizacji warunków reakcji jest możliwe jednoczesne wykrywanie z wysoką skutecznością dwóch par genów odporności *H1* (marker TG689) i *Gro1-4* (marker Gro1-4) oraz *H1* (marker TG689) i *Gpa5-like* (marker SPUD1636). Niestety uzyskano niezadawalające rezultaty przy próbie amplifikacji markerów dla trzech genów jednocześnie.

Podjęto również próbę identyfikacji heterozygot typu dupleks dla genu odporności *H1* w nieselekcjonowanych potomstwach, których osobniki w porównaniu do form rodzicielskich (typu simpleks) wykazywały wyższą fluorescencję w reakcji ilościowego PCR dla markerów molekularnych sprzężonych z genem *H1*, tj. 57R i TG689. Niestety, analiza segregacji markera TG689 w czterech populacjach testowych (wyprowadzonych z udziałem osobników o podwyższonej fluorescencji) wykazała w odniesieniu tylko do jednej populacji występowanie oczekiwanego stosunku rozszczepień, który dowodził występowania w formie rodzicielskiej genu *H1* w typie dupleks.

W dalszej części rozdziału, Autorka przedstawiła wyniki oceny cech użytkowych klonów z trzech nieselekcjonowanych populacji, w których dla części stwierdzono występowanie lub brak markerów TG689 i 57R sprzężonych z genem *H1*. Doświadczenia prowadzono w fazie siewki i czterech kolejnych rozmnożeniach bulwowych. Wykazano, że dobry poziom cech użytkowych nie jest zależny od obecności markerów genu *H1*. Co więcej, przeprowadzając symulację selekcji dla tych samych trzech nieselekcjonowanych populacji z udziałem markera TG689 (sprzężonego z genem *H1*) stwierdzono, że występowało duże zróżnicowanie ocen dla większości badanych cech w kolejnych latach przy braku zaznaczenia się wyraźnych tendencji (dla większości cech różnice były nieistotne) dla klonów mających pożądaną marker molekularny lub jego brak.

W końcowej części rozdziału Wyniki dotyczącej oceny poziomu cech agronomicznych zaawansowanych rodów hodowlanych łączących odporność na wiele patotypów *Globodera* spp. Autorka wykazała, że nagromadzenie genów odporności na mątwiki nie wpływa negatywnie na poziom cech agronomicznych. Spośród badanych materiałów, wyselekcjonowano grupę 14 rodów ziemniaka o bardzo dobrej odporności na wszystkie patotypy *Globodera* spp. i dobrych cechach agronomicznych.

Do najważniejszych osiągnięć pracy zaliczam:

- wytypowanie markerów molekularnych TG689 i 57R, Gro1-4 oraz SPUD1636 sprzężonych z genami odporności odpowiednio *H1*, *Gro1-4* i *Gpa5-like*, które mogą być stosowane pojedynczo lub wybranych kombinacjach (w układzie multipleks PCR) w praktycznej hodowli ziemniaka,
- wykazanie, że selekcja molekularna odporności na mątwiki zwykle nie pociąga za sobą negatywnych skutków dla innych cech użytkowych.

W rozdziale **Dyskusja**, Autorka konsekwentnie i kolejno omawia otrzymane wyniki na tle dostępnych danych literaturowych wydzielając stosowne podrozdziały. Sposób prowadzenia dyskusji w poszczególnych podrozdziałach jest podobny i początkowo podawane są informacje wstępne dotyczące danego problemu, następnie najważniejsze wyniki własne i w końcu konfrontacja z danymi literaturowymi. Taki uporządkowany styl prowadzenia dyskusji przy realizacji kilku celów badawczych, pozwala czytelnikowi na łatwe podążanie za kierunkiem prowadzonej dyskusji, niemniej jednak nie powinna być w tym miejscu zamieszczana powtórnie informacja, którą można znaleźć w

Materiałach i metodach (str. 92, wiersz 2-13). Również pierwsze akapity tego rozdziału (str. 90) zawierają ogólne informacje, z którymi wcześniej można było się zapoznać w rozdziale Przegląd literatury dlatego uważam, że można było je w tym miejscu pominąć.

Trafnie dobrana literatura pozwoliła na skonfrontowanie i krytyczną ocenę własnych wyników. Dyskutując wyniki zbieżności charakterystyki fenotypowej odporności odmian (na podstawie danych katalogowych) z molekularnym typowaniem badanych genów odporności, Autorka właściwie interpretuje i wskazuje na możliwe źródła jej braku, tj. nieudokumentowana introdukcja innych genów odporności, rekombinacji pomiędzy genem i markerem, zaburzenia rekombinacji fragmentu genomu obcego gatunku oraz nieściśności w danych historycznych (katalogowych). Brakuje mi jednak w tej części dyskusji, wyjaśnienia wysokiej efektywności w typowaniu genów odporności przynajmniej dla markerów molekularnych TG689, 57R i Gro1-4 w odmianach ziemniaków. Pozostałe markery molekularne wykorzystane w typowaniu genów odporności zostały omówione w sposób wyważony w konfrontacji z danymi literaturowymi. W przypadku równoczesnej identyfikacji genów w reakcji multipleks PCR właściwie dobrana literatura pozwoliła Autorce na rzeczowe przedyskutowanie wyników doświadczeń. Mimo niepowodzenia w próbie określenia dawki genu *H1* w formach rodzicielskich techniką qPCR warto podkreślić, że wskazano również planowane sposoby skutecznego rozwiązania tego problemu z wykorzystaniem sond TaqMan. W ostatniej części Dyskusji omawiane są wyniki oceny poziomu cech agronomicznych klonów selekcjonowanych przy użyciu markerów molekularnych. Wydaje mi się, że ten fragment rozdziału wyglądał by znacznie lepiej gdyby Autorka skorzystała z własnej publikacji, która ukazała się w 2014 roku w Czech Journal of Genetics and Plant Breeding (50: 278-284), pt. „Early selection of potato clones with the *H1* resistance gene – the relation of nematode resistance to quality characteristics”.

W mojej ocenie rozdział **Podsumowanie i wnioski** dostarcza informację o uzyskanych w pracy wynikach uzyskanych w punktach 3 i 6. Natomiast, w punktach 1, 2, 4 i 5 sformułowano wnioski i nie jest to błędem skoro tak zatytułowano ten rozdział. Niemniej jednak oczekiwałbym w tym miejscu tylko wyraźnie sformułowanych wniosków płynących z uzyskanych wyników i stwierdzeń z przeprowadzonej dyskusji. Należy pamiętać, że wnioski nie są ani streszczeniem ani podsumowaniem wyników.

### **Uwagi szczegółowe o charakterze redakcyjnym i inne dotyczące treści pracy nieobniżające jakości rozprawy**

Uwagi dotyczące całej pracy

1. Zgodnie z zasadami pisowni języka polskiego, pisownia z dużej litery „Tabela”, „Rysunek” lub „Dodatek” w środku zdania jest błędne.
2. Bark kropki kończącej opis nagłówka tabel i rysunków, wyjątkiem są tabele D1.1 i D1.2.

Pozostałe

3. W przyjętym stylu podawania cytowanej literatury w tekście, w przypadku gdy w nawiasie podajemy więcej niż jedno źródło należałoby oddzielać pozycje literatury średnikiem (str.11).
4. Str. 45, powinno być „test Fisher’a” zamiast „test Fischer’a”, „test Tukey’a” zamiast „test Tuckey’a”.
5. W spisie literatury, cytowane strony internetowe powinny również zawierać datę korzystania z wyszczególnionych zasobów internetowych.

6. W spisie literatury nazwa czasopisma powinna być pisana kapitalikami, dotyczy to pozycji: 4, 28, 57, 87, 95, 124, 139 i 148.
7. W spisie literatury brakuje pozycji cytowanej na str. 17, wiersz 6: Kwarantannowe agrofagi Europy, 1994; str. 17, wiersz 25: Rejestr środków ochrony roślin dopuszczony do obrotu i stosowania zezwoleniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi, 2015; str. 98, wiersz 13: Charakterystyka krajowego rejestru odmian ziemniaka 2015. Podane w stopce tabeli 4 (str. 32) źródła danych powinny również znaleźć się w spisie literatury.
8. Błędy literowe: str. 57, stopka tabeli 12, wyraz „jedendo” – powinno być „jednego”; poz. literatury 107, wyraz „FRLP” – powinno być „RFLP”.

### **Podsumowanie**

W konkluzji końcowej stwierdzam, że przedstawione powyżej uwagi i spostrzeżenia nie wpływają na moją pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr Doroty Milczarek. Postawiona w pracy hipoteza badawcza została pomyślnie zweryfikowana poprzez pełną realizację postawionych celów badawczych. Uzyskane wyniki, zostały rzeczowo przedyskutowane w oparciu o dobrą znajomość danych literaturowych, a ich interpretacja nie budzi zastrzeżeń. Zakres podjętych badań, wymagał od Doktorantki dużego nakładu pracy w doświadczeniach laboratoryjnych fenotypowania odporności na mątwiki ale również w wykonaniu prac molekularnych. Praca zawiera wartościowe wyniki bardzo użyteczne dla praktycznej hodowli ziemniaka wspomaganą markerami molekularnymi.

Przedstawiona do oceny rozprawa świadczy, że jej Autorka posiada umiejętności w organizowaniu eksperymentów badawczych, opanowała odpowiednie metody badawcze oraz ma umiejętność samodzielnego rozwiązywania postawionego celu badawczego i trafnego wnioskowania. W związku z powyższym stwierdzam, że przedstawiona praca całkowicie spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę z 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, określone w art. 13 ustawy (Dz. U. z 2014 poz. 1852) i wnioskuję do Wysockiej Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie o dopuszczenie mgr inż. Doroty Milczarek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. Paweł Cz. Czembor, prof. nadzw. IHAR-PIB