

## OCENA

## OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

**„IDENTYFIKACJA I CHARAKTERYSTYKA EKSPRESJI GENÓW ODPORNOSCI  
NA *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary ORAZ ICH WYKORZYSTANIE W  
HODOWLI ZIEMNIAKA UPRAWNEGO (*Solanum tuberosum* L.)”**

Pani dr Jadwiga Śliwka już w szkole średniej interesowała się nauką, biorąc udział w Olimpiadzie Biologicznej z pracą na temat allelopatycznego oddziaływania czosnku na wzrost innych roślin. Udział w Olimpiadzie zakończyła jako laureatka i finalistka. Jej zdolności w tej dziedzinie ujawniły się w czasie studiów na Uniwersytecie Jagiellońskim, Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi, gdzie w 2001 roku została wyróżniona jej praca magisterska „Izoformy oksydoreduktazy ferredoksyna NADP”. W tym samym roku w nagrodę za zaangażowanie i wybitne wyniki w nauce uzyskała stypendium Ministra Edukacji Narodowej. Pięć lat później, gdy pracowała już w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, otrzymała wyróżnienie za pracę doktorską. W 2006 roku praca ta została nagrodzona przez premiera Rzeczypospolitej Polskiej. Kolejne wyróżnienie to w 2007 roku nagroda dyrektora IHAR za aktywność, zaangażowanie i wyróżniające wyniki w pracy naukowej. Następne wyróżnienie naukowe to stypendium START, 2007 i 2008, Fundacja na rzecz nauki polskiej, dla wybitnych, młodych uczonych na początku kariery naukowej, posiadających udokumentowane osiągnięcia w swojej dziedzinie badań. Wreszcie w 2010 roku nagroda dla Młodych Naukowców, 2010. Fundacja Członków Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN *Pro Scientia et Vita*. Przytoczone tu dane wskazują na bardzo duże zaangażowanie Pani dr J. Śliwki w badania naukowe i wskazanie, jak istotne dla nauki były jej wyniki badań.

Jak już wspomniano Pani Jadwiga Śliwka ukończyła w 2001 roku studia na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie i już od 1 lipca tegoż roku rozpoczęła pracę w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin-PIB, Oddział Młochów kolejno na stanowiskach stażysty, pracownika inżynieryjno – technicznego, asystenta i adiunkta. Od 1 czerwca 2009 roku do chwili obecnej jest kierownikiem Pracowni Badania Odporności Ziemniaka na Grzyby i Bakterie. Pracując w Instytucie przebywała około 3 lata na dłuższych stażach naukowych w Wielkiej Brytanii, Niemczech i Holandii i 3 kilkunastodniowych wyjazdach.

W 2005 roku Pani mgr Jadwiga Śliwka obroniła pracę doktorską „Charakterystyka odporności na *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary liści i bulw ziemniaka w wybranych populacjach diploidalnych mieszańców *Solanum tuberosum* L.”

Niniejszą recenzję osiągnięć Pani dr Jadwigi Śliwki, ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, przygotowałem na podstawie przygotowanych i przesłanych materiałów.

## **OCENA DOROBKU NAUKOWEGO**

Pani Dr Jadwiga Śliwka jest autorem lub współautorem 20 oryginalnych prac naukowych, w tym 2 opublikowanych przed uzyskaniem stopnia doktora. 7 z tych prac zostało opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, znajdujących się w bazie J. Citation Reports (JCR). Ponadto, 5 prac naukowych, wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, znajduje się w bazie JCR.

Pani dr J. Śliwka jest również autorem jednego artykułu popularno-naukowego oraz opublikowanego na łamach czasopisma Farmer jej wywiadu z W. Koniecznym. Jej dorobkiem jest również aktywny udział w propagowaniu wiedzy przekazywanej na seminariach lub wykładach. Na seminarium w Res. Center, Seibersdorf Res. (ARCS) w Austrii w 2005 roku przedstawiła zagadnienie związane z głównymi genami odporności ziemniaków na *Phytophthora infestans*, a na SGGW, w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin w 2013 roku wygłosiła referat ‘Ziemniak (*Solanum tuberosum* L.) kontra zaraza ziemniaka (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary: walka na geny’’. Dla studentów SGGW, kierunku biotechnologia, w 2013 roku wygłosiła wykład „Charakterystyka nowych źródeł odporności ziemniaka na *Phytophthora infestans*”

Bardzo istotna część dorobku naukowego dr J. Śliwki to również 18 referatów wygłoszonych na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych oraz jej udział w 35 międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych.

Sumaryczny współczynnik wpływu Impact Factor (IF) wg listy JCR to 29,568, a liczba cytowań wg Web of Science wynosi 85. Z kolei Indeks Hirscha wg bazy Web of Science wynosi 5. Za publikacje naukowe uzyskała ok. 401 punktów wg punktacji MNiSW. Te osiągnięcia naukowe Habilitantki stanowią przede wszystkim prace naukowe opublikowane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.

Dorobek naukowy Pani dr J. Śliwki to prace związane z odpornością ziemniaka na *Phytophthora infestans*. Dwie prace opublikowane przed obroną pracy doktorskiej dotyczą

metod stosowanych do charakteryzowania izolatów *P. infestans* i czynników genetycznych wpływających na odporność ziemniaka na tego patogena.

Prace publikowane po 2005 roku dotyczą genów odporności ziemniaka na omawiany czynnik chorobotwórczy, w tym genów również z innych gatunków anizeli *Solanum tuberosum*. Poza trzema publikacjami wszystkie inne są wieloautorskie, w których udział habilitantki waha się od 5 do 70% (średnio 41%).

Za szczególne osiągnięcie uważam opublikowanie większości prac w najlepszych czasopismach naukowych. Świadczy to o ważkości pojętych badań oraz wysokiej wartości naukowej przygotowanych publikacji. Bardzo istotna jest również zespołowa praca Pani dr J. Śliwki, w tym z naukowcami z innych krajów.

## **OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO**

Pani dr Jadwiga Śliwka jako przedmiot badań wybrała ziemniak, który wg autorki jest po ryżu, pszenicy i kukurydzy najczęściej uprawianą rośliną na świecie. Nasz kraj, produkujący rocznie około 8 mln ton ziemniaków zajmuje drugie miejsce pod względem wielkości produkcji w Europie.

Autorka zajęła się badaniami nad *Phytophthora infestans*, gatunku powodującego zarazę ziemniaka. Już w połowie XIX wieku o szkodliwości tej choroby w Polsce pisał Kurowski (1845). Powszechnie znaną jest śmierć głodowa ok. 1 mln Irlandczyków wskutek zniszczenia upraw ziemniaków przez *P. infestans* w połowie XIX wieku i emigracja 1,5 mln obywateli z Irlandii do innych krajów. Wspomniane wydarzenia spowodowały bliższe zainteresowanie się chorobą i poszukiwanie sposobów ograniczających jej występowanie. Wśród nich chemiczna ochrona ziemniaków przed *P. infestans* stała się podstawą do uzyskiwania zadawalającego plonu. Aplikacja środków nawet kilkunastokrotnie w sezonie wegetacyjnym powoduje znaczne zagrożenie dla środowiska, skażenia plonu resztkami pestycydów oraz uodparniania się patogena na środki ochrony. Koniecznością stała się więc hodowla odmian ziemniaka odpornych na *P. infestans*. Wg dr Śliwki już na początku XX wieku w gatunku *Solanum demissum* odkryto 11 genów głównych odporności na *P. infestans*, które wprowadzono do odmian ziemniaków. Okazało się jednak, że ta odporność nie jest trwała, co skłoniło hodowców do zainteresowania się odpornością ilościową, warunkowaną poligenicznie. Odporność ta wiąże się jednak z przedłużeniem okresu wegetacji ziemniaków. Następnym jest brak odmian odpornych do powszechnej uprawy tej rośliny. Naukowcy zainteresowali się ponownie genami R, które inicjują reakcje odpornościowe prowadzące do

reakcji nadwrażliwości i w konsekwencji zamierania zainfekowanych tkanek razem z czynnikiem chorobotwórczym. W ostatnich latach, wg Śliwki i Zimoch-Guzowskiej (2013), zidentyfikowano około 50 genów R.

Badania Habilitantki, opublikowane w 5 pracach naukowych, stanowiących rozprawę habilitacyjną, obejmują wyniki badań nad odpornością ziemniaka na *Phytophthora infestans* warunkowaną przez 4 geny R.

Wynikiem tych badań było wyselekcjonowanie odpornych klonów dzikich gatunków z rodzaju *Solanum*, spokrewnionych z ziemniakiem jadalnym z unikatowej kolekcji Wawilowa w Petersburgu. Geny *Rpi-mchl* i *Rpi-rzcl* zlokalizowano na mapie genetycznej ziemniaka diploidalnego. Są to pierwsze mapy genetyczne rodzaju *Solanum* skonstruowane z użyciem markerów DArT, które zostały opublikowane w czasopismach naukowych.

Gen *Rpi-mchl*, który zidentyfikowano w *Solanum michoacanum*, uważany jest za mieszańca międzygatunkowego *S. bulbocastanum* i *S. pinnatisectum*. W piśmiennictwie oba te gatunki uważane są jako źródła odporności ziemniaków na *P. infestans*. Ten diploidalny gatunek nie krzyżuje się z *S. tuberosum* z powodu niekompatybilnej ploidalności bielma. W badaniach Habilitantki populację mapującą stanowiły 164 osobniki pokolenia F1 uzyskane ze skrzyżowania odpornego i podatnego na *P. infestans* klonu *S. michoacanum*. Mapę genetyczną form rodzicielskich uzyskano na podstawie analizy sprzężeń 798 markerów DArT i 48 markerów o znanej lokalizacji na chromosomach ziemniaka, a gen *Rpi-mchl* zlokalizowano na chromosomie VII genomu ziemniaka. Pani dr J. Śliwka jest współautorem badań wykonywanych wspólnie z the Sainsbury Laboratory w Wielkiej Brytanii, w których dokonano introgresji tej odporności do puli genetycznej ziemniaka przez hybrydyzację somatyczną, a także izolacji genu *Rpi-mchl* z użyciem sekwencjonowania nowej generacji. Istnieje szansa na wprowadzenie genu *Rpi-mchl* do ziemniaka uprawnego metodą cisgenezy. Pani dr J. Śliwka uważa, że gen *Rpi-mchl* może być cenny dla hodowli, szczególnie w uzyskiwaniu piramid genów odporności, gdyż jest usytuowany w miejscu, w którym zidentyfikowano jedynie gen *Rpil* odporności na *P. infestans* pochodzący z *S. pinnatisectum* i nie był dotychczas wykorzystywany w hodowli.

Drugim, zmapowanym genem odporności na *P. infestans* jest *Rpi-rzcl* uzyskany z *S. ruiz-ceballosii*. Do mapowania użyto go w charakterze mapującej 114 diploidalnych osobników pokolenia F1 z krzyżowania odpornego klonu *ruiz-ceballosii* z diploidalnym klonem ziemniaka Bulbina. Mapa genetyczna form rodzicielskich została skonstruowana z 1603 markerów DArT i 48 markerów specyficznych dla sekwencji z poszczególnych

chromosomów ziemniaka. Populację mapującą dla dH Balbina i *ruiz-ceballosii* wykorzystano do identyfikacji czynników genetycznych warunkujących barwę kwiatów, w której rodzic odporny miał kwiaty jasnofioletowe, podczas gdy dH Balbina - białe. Uzyskane potomstwo charakteryzowało się zróżnicowaną barwą kwiatów, która może służyć do określania odporności. Gen *Rpi-rzcl*, zapewniający wysoką odporność liści i bulw na *P. infestans*, wprowadzono do puli genetycznej ziemniaka uprawnego. Uzyskane dane opublikowano w 2 pracach (Śliwka i in. 2010 i Śliwka i in. 2013). Współpraca habilitantki ze wspomnianym już laboratorium w Wielkiej Brytanii zaowocowała badaniami nad w/w genem. Poznano już jego sekwencję, która jest typowa dla genów R. Został on przeniesiony na poziom tetraploidalny i w wyselekcjonowanych liniach przekazany do spółki handlowej Zamarte Hodowla Ziemniaka do wykorzystania w programach hodowlanych przy użyciu markera GP94, którego przydatność Habilitantka poznała wcześniej. Marker ten jest stosunkowo rzadki w puli genetycznej ziemniaka uprawnego, a wśród mieszańców międzygatunkowych z udziałem *S. kurtizanum* i *S. ruiz-ceballosii* allel ten był wykrywany pod nieobecność genu *Rpi-phul*. Użyto go również w selekcji w 2 potomstwach uzyskanych w celach komercyjnych w firmie Zamarte Hodowla Ziemniaka.

Habilitantka wykazała, że nawet przy silnej presji infekcyjnej *P. infestans* w warunkach naturalnych, wyselekcjonowane linie hodowlane ziemniaka posiadające gen *Rpi-phul* były odporne na patogena. Jednakże pod koniec sezonu wegetacyjnego 2009 roku na roślinach z wymienionym już genem wystąpiły symptomy zarazy ziemniaka. Habilitantka tłumaczy to ewentualnym zanikiem lub obniżeniem ekspresji genu odporności w starzejących się ziemniakach. Sprawdzając tę hipotezę wykorzystano dostępną do niedawna sekwencję genu *Rpi-phul-vnt1.1* i przeprowadzając analizę qRT-PCR ekspresji względem genu *Rpi-phul* przed i do 5 dni po kontakcie rośliny z patogenem w roślinach wybranej linii hodowlanej o różnym wieku oraz w o różnym tle genetycznym di- i tetraploidalnych. Stwierdzono odporność wszystkich roślin bez względu na ich wiek. Wykazano jednakże wzrost poziomu transkryptu genu *Rpi-phul* w roślinach diploidalnych po kontakcie z *P. infestans*. Być może, iż jest to przyczyną stwierdzonych różnic. Badania są nadal kontynuowane przez zespół kierowany przez dr J. Śliwkę. Habilitantka miała możliwość współuczestniczyć w projekcie badawczym nad efektorami produkowanymi przez *P. infestans*, ich zmiennością i zdolnością do bezpośredniej lub pośredniej aktywności białek R. Dla zbadania funkcji poszczególnych motywów białka PiAvr4, utworzono serię biernych konstruktów DNA, które wprowadzono do wektora pGR106, a następnie za pośrednictwem *Agrobacterium tumefaciens* do roślin

posiadających gen oraz do ziemniaków odm. Bintje podatnych na *P. infestans*. Wykazano, że do wywołania nekrotycznej reakcji u roślin z w/w genem niezbędny jest motyw W2PiAvr4 w połączeniu z motywem W1 lub W3. Badania te umożliwiły lepsze poznanie mechanizmu aktywacji białka R przez efektor. Poznano kluczowe elementy efektor, których mutacje mogą prowadzić do nabywania przez *P. infestans* zdolności do infekcji roślin z określonym genem odporności.

**W podsumowaniu**, efektem badań Pani dr Jadwigi Śliwki w ramach jej osiągnięcia naukowego jest:

- identyfikacja i zmapowanie nowych genów odporności R: *Rpi-mchl* i *Rpi-rzcl*.
- konstrukcję pierwszych map genetycznych gatunków rodzaju *Solanum* z użyciem markerów DarT
- wprowadzenie genu *Rpi-phul* do hodowli ziemniaka uprawnego
- o pracowanie markera GP94 i określenie jego przydatności do selekcji form ziemniaka odpornych na *P. infestans* z genem *Rpi-phul*
- charakterystyka ekspresji genu *Rpi-phul*
- poznanie molekularnego podłoża działania genu *R4* odporności na *P. infestans*.

## **OCENA DZIAŁALNOŚCI DYDAKTYCZNEJ I ORGANIZACYJNEJ**

Będąc pracownikiem instytutu resortowego, bez narzuconego obowiązku nauczania, Pani dr J. Śliwka czynnie uczestniczyła w działalności dydaktycznej. Wspomniano już o wykładzie dla studentów SGGW, kierunku biotechnologia, wygłoszonym w 2013 roku.

Bardzo istotną jest działalność naukowa Habilitantki w zakresie upowszechniania osiągnięć naukowych. W latach 2002 – 2013 na tematycznych konferencjach międzynarodowych i krajowych wygłosiła lub była współautorem 18 referatów. Na konferencjach naukowych międzynarodowych i krajowych zaprezentowała lub była współautorem 35 referatów.

Umiejętności Pani dr J. Śliwki wykorzystali redaktorzy 10 zagranicznych czasopism naukowych, dla których przygotowała recenzję manuskryptów.

W latach 2009-2011 habilitantka sprawowała 7-dmiokrotnie - opiekę nad letnimi praktykami studenckimi, które odbywały się w IHAR Oddziale w Młochowie. Dr J. Śliwka jest również promotorem pomocniczym w przygotowywanej pracy doktorskiej dotyczącej analizy genetycznej tolerancji na ciemną plamistość bulw ziemniaka diploidalnego, realizowanej w IHAR-PIB.



Pani dr Jadwiga Śliwka jest członkinią:

-European Association for Potato Research

-Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin I członkiem Zarządu Głównego tego Towarzystwa.

### **WSPÓŁPRACA Z INNYMI OŚRODKAMI NAUKOWYMI (STAŻE ZAGRANICZNE I KRAJOWE)**

Pani dr Jadwiga Śliwka współpracowała z 7 ośrodkami naukowymi, w tym 6 zagranicznymi. Spędziła w nich łącznie około 3 lat. Dzięki temu, w znacznej mierze mogła wykonać badania stanowiące przedmiot rozprawy habilitacyjnej.

Poniżej podaję ośrodki naukowe, w których Habilitantka odbywała staże naukowe lub przebywała na krótkich wizytach.

- Uniwersytet Walijski w Bangor, Wielka Brytania – 6 miesięcy w 2000 r.

- Instytut Maxa Plancka w Niemczech – 6 miesięcy w latach 2002 - 2003 i 6 miesięcy w latach 2003 – 2004

- Centrum Doskonałości Biologii Molekularnej przy IBB PAN - 3 dni w 2002 r.

- Uniwersytet As w Norwegii 7 dni w 2004 r.

- Scottish Crop Res. Institute, Wielka Brytania 11 dni w 2004 r. i 11 dni w 2006 r.

- Uniwersytet w Wageningen, Holandia – 5 miesięcy w 2007 r.

- The Sainsbury Lab., Wielka Brytania 11 miesięcy w 2008 r.

### **WNIOSEK KOŃCOWY**

**Analiza osiągnięcia naukowego „Identyfikacja i charakterystyka ekspresji genów odporności na *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary oraz ich wykorzystanie w hodowli ziemniaka uprawnego (*Solanum tuberosum* L.)” i całokształtu działalności naukowej dr Jadwigi Śliwki pozwala jednoznacznie stwierdzić, że dorobek naukowy i popularyzatorski oraz dydaktyczny spełniają wszystkie wymagania stawiane w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w dziedzinie sztuki (Dz. Ustaw Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) jak i rozporządzeniu MNiSW z dnia 1 września 2011 roku w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.**

**W związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie wniosek popierający nadanie stopnia dr habilitowanego Pani dr Jadwidze Śliwce.**

**Równocześnie wnioskuję o wyróżnienie dorobku naukowego Pani dr Jadwigi Śliwki stosowną nagrodą.**

**Skierniewice, 22.10.2013**



**Prof. dr hab. Leszek B. Orlikowski**