

Radzików, 17 czerwca 2013

Dr hab. Paweł Czembor, prof. nzw. IHAR-PIB
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut Badawczy
Radzików, 05-870 Błonie

Ocena

Dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej dr Katarzyny Mikołajczyk pt. „Markery genetyczne w programach hodowli rzepaku”

I. Ocena dorobku naukowego

Dr Katarzyna Mikołajczyk jest absolwentką Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Tytuł magistra biologii ze specjalnością biologia molekularna uzyskała w 1986 na podstawie pracy magisterskiej pt. „Zmiany potencjału błonowego w mitochondriach *Ascaris suum* mierzone sondą fluorometryczną dis-C3-(5)”. Po ukończeniu studiów, Habilitantka rozpoczęła pracę w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, w Pracowni Biochemii tRNA, kierowanej przez prof. dr hab. Jana Barciszewskiego. W roku 1997, po obronie pracy doktorskiej pt. „Charakterystyka cDNA kodującego białko rybosomalne P0 łubinu żółtego i jego ekspresja” uzyskała tytuł naukowy doktora nauk chemicznych w zakresie biochemii. Tego samego roku, Habilitantka podjęła pracę w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, w którym pracuje do dnia dzisiejszego. Swoją obecną działalność naukową prowadzi w Zakładzie Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych, Oddział w Poznaniu, w Pracowni Genetyki i Hodowli Jakościowej, początkowo pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Krzymańskiego, a następnie prof. dr hab. Iwony Bartkowiak-Brody.

Dorobek naukowy po doktoracie obejmuje poza rozprawą habilitacyjną 6 oryginalnych prac twórczych, z których jedną opublikowano w czasopiśmie indeksowanym przez Filadelfijski Instytut Informacji Naukowej, a pozostałe w krajowym czasopiśmie *Rośliny Oleiste - Oilseed Crops*. Ponadto, Habilitantka jest współautorem 2 monografii i 4 prac popularno-naukowych oraz przeglądowych, w tym jedna stanowi rozdział książki *Advances in Botanical Research* o wysokim współczynniku oddziaływania publikacji (IF) wynoszącym 2,308. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) publikacji, które ukazały się po doktoracie poza rozprawą habilitacyjną, wynosi 2,74; publikacje cytowano 4-krotnie (nie uwzględniając autocytowania), a współczynnik Hirscha osiągnął wartość 2 (na podstawie bazy danych Web of Science).

W tym okresie, dr Katarzyna Mikołajczyk znacząco zmieniła swój zakres zainteresowań na nowy obszar pracy naukowej poświęcony wdrożeniu analiz molekularnych do programów hodowli rzepaku w Polsce. Przydatne okazały się wcześniejsze (z przed doktoratu) opanowanie niektórych technik molekularnych (np. izolacji DNA i RNA, sekwencjonowania, ekspresji białek w systemie bakteryjnym) zdobyte przy analizie struktury i funkcji tRNA i cząsteczki 5S rRNA oraz charakterystyki cDNA kodującego białko rybosomalne P0 łubinu żółtego. Opanowany warsztat technik molekularnych przy gruntownej znajomości potrzeb hodowli rzepaku zaowocował opublikowaniem prac wartościowych z punktu widzenia praktycznej hodowli rzepaku, a dotyczących m.in.:

- doboru genotypów do hodowli heterozyjnej, tj. linii męsko-sterylnych z cytoplazmą typu *ogura* (CMS *ogura*) i linii z genem restorerem *Rfo* dla CMS *ogura*
- określenia dystansu genetycznego linii rodzicielskich mieszańców F₁
- identyfikacji i wykorzystania markerów molekularnych sprzężonych z obniżoną zawartością kwasu linolenowego

Ponadto, na okres po doktoracie przypada 20 komunikatów prezentowanych na krajowych i zagranicznych konferencjach w formie plakatów, w których dr Katarzyna Mikołajczyk była współautorem. Jak również, wygłosiła 10 referatów na krajowych i 3 na międzynarodowych konferencjach, seminariach lub szkoleniach. W latach 2003-2006 kierowała projektem badawczym finansowanym przez Komitet Badań Naukowych. W trakcie swojej pracy, Habilitantka odbyła również 5 krótkoterminowych staży naukowych w byłym Związku Radzieckim, Niemczech i Francji.

Warto nadmienić, że współautorami publikacji habilitantki są również pracownicy naukowcy poznańskich ośrodków uniwersyteckich (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza i Uniwersytet Przyrodniczy), Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN oraz Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich. Świadczy to o zdolnościach organizacji i umiejętności podejmowania współpracy w większych zespołach badawczych również z naukowcami z poza macierzystej jednostki.

Należy szczególnie podkreślić, że przedstawiony dorobek naukowy stanowi harmonijne połączenie wyników badań podstawowych z ich wykorzystaniem w praktyce, przy czym zdecydowanie przebija aplikacyjny charakter prac. Jest to niezwykle przydatne w obecnych warunkach, w których kładzie się duży nacisk na transfer wyników badań podstawowych do praktyki. Jednym z ciekawszych wdrożeń, których współautorem jest dr Katarzyna Mikołajczyk było opracowanie allelo-specyficznych markerów SNP dla genów desaturazy *FAD3* oraz marker SCAR-C02 dla genu restorera *Rfo*. Warto również wspomnieć, że obydwa odkrycia zostały opatentowane. Co więcej, będąc członkiem zespołu kierowanego przez prof. dr hab. Iwonę Bartkowiak-Brodę została nagrodzona przez Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w temacie badawczo-wdrożeniowym pt. „Opracowanie metody hodowli odmian mieszańcowych restorowanych rzepaku ozimego wspomaganej markerami molekularnymi i wdrożenie do praktyki hodowlanej”.

II. Ocena rozprawy habilitacyjnej

1. Ocena zgodności z wymogami formalnymi

Rozprawa habilitacyjna pt. „Markery genetyczne w programach hodowlanych rzepaku” składa się z wprowadzenia do problematyki badań, wykazu i charakterystyki prac wchodzących do rozprawy habilitacyjnej, podsumowania i wniosków, spisu literatury oraz streszczenia w języku polskim i angielskim, na końcu zamieszczono przedruki publikacji będących przedmiotem rozprawy. Rozpatrywane publikacje ukazały się w latach 1998-2012, w sześciu z nich kandydatka jest pierwszym, a w jednej – drugim, równorzędnym autorem. Udział Habilitantki w powstawaniu tych publikacji (koncepcja badań, realizacja doświadczeń, opracowanie wyników, opracowanie publikacji) był dominujący i wynosił od 50 do 80%, co potwierdza jej twórczą rolę w przygotowaniu rozprawy habilitacyjnej. Rozprawa habilitacyjna dr Katarzyny Mikołajczyk jest opracowaniem spójnych tematycznie siedmiu publikacji, w związku z tym spełnia wymogi formalne stawiane pracom habilitacyjnym.

2. Ocena merytoryczna rozprawy habilitacyjnej

Celem głównym pracy było opracowanie i wdrożenie markerów genetycznych na potrzeby hodowli heterozyjnej i jakościowej rzepaku.

W rozdziale pt. „Problem badawczy” przedstawiono krótko trendy hodowli jakościowej, która obecnie skupia się na tworzeniu genotypów o nowych cechach, np. zróżnicowanej zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych przy jednoczesnym utrzymaniu pozostałych korzystnych cech. Jednocześnie rozwijana jest hodowla heterozyjna w oparciu o system genowo-cytoplazmatycznej męskiej sterility (CMS) typu *ogura*. Problematyka hodowli rzepaku została szerzej opisana w rozdziale pt. „Wstęp”, gdzie scharakteryzowano bliżej kwasy tłuszczowe, wyjaśniono rolę i znaczenie enzymu desaturazy *FAD3* w przemianie kw. linolowego w kw. linolenowy, a w końcu przedstawiono zwięzły przegląd zidentyfikowanych sprzężeń markerów molekularnych z ważnymi gospodarczo cechami rzepaku.

W następnym rozdziale zamieszczono wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej, dla których podano krótką informację o zakresie przeprowadzonych badań. Pozwala to czytelnikowi na przybliżenie zasadniczych wątków badawczych poszczególnych prac, które składają się na logiczną i spójną całość rozprawy.

Pierwsze trzy publikacje dotyczą badań nad poszukiwaniem markerów dla systemu genowo-cytoplazmatycznej męskiej sterility typu *ogura*, wykorzystywanego w hodowli heterozyjnej. W publikacji I, korzystając z danych literaturowych opracowano własne warunki reakcji dla markera SCAR sprzężonego z CMS typu *ogura* oraz markera RAPD OPC02₁₁₅₀ sprzężonego z genem restorerem *Rfo* dla wspomnianego typu CMS. Obydwa markery z powodzeniem przetestowano na polskich materiałach hodowlanych. Publikacja II, dotyczy przekształcenia wymienionego wcześniej markera RAPD OPC02₁₁₅₀ w marker SCAR-C02, co wymagało sklonowania i zsekwencjonowania produktu PCR generowanego przez startery RAPD. Publikacja III jest dalszym rozwinięciem prac zaprezentowanych w dwóch poprzednich publikacjach. Przedstawiono test genetyczny opracowany w oparciu o metodę wielokrotnego PCR, tzn. jednoczesnego zastosowania trzech par starterów do amplifikacji markerów SCAR CMS, SCAR-C02 oraz produktu kontrolnego, który stanowił zachowawczy fragment sekwencji kodującej gen *aktyny 7 Brassica napus*. Dzięki temu możliwa jest szybka i pełna analiza systemu męskiej sterility typu *ogura* u rzepaku, co niewątpliwie zwiększa możliwości selekcji molekularnej form rodzicielskich do tworzenia mieszańców w programach hodowlanych.

Publikacja IV jest pracą przeglądową wprowadzającą czytelnika w problematykę poprawy cech jakościowych oleju rzepakowego. Zawiera przegląd danych literaturowych dotyczących badań nad identyfikacją genów i markerów molekularnych mających związek ze składem kwasów tłuszczowych oleju nasion rzepaku. Prześledzono zasadnicze etapy szlaku biosyntezy kwasów tłuszczowych w komórkach roślinnych oraz opisano podejmowane próby modyfikacji ich proporcji w oleju rzepakowym.

Publikacja V, dotyczy opracowania kodominujących allelo-specyficznych markerów dla wykrywania genotypów rzepaku ozimego o niskiej zawartości kwasu linolenowego. W ramach tej pracy, sklonowano i zsekwencjonowano fragmenty genów *FAD3* obejmujących region od drugiego do siódmego eksonu, pochodzące z genomów A i C form podwójnie ulepszonych oraz z linii niskolinolenowego mutantu M681. Analizując otrzymane sekwencje, wykryto dwa polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (ang. Single Nucleotide Polymorphism, SNP) istotnie skorelowane z zawartością kw. linolenowego w oleju rzepakowym. Te odkrycia, pozwoliły na opracowanie markerów genetycznych wykrywanych przy użyciu

analizy SNaPshot, obejmującej niezależną amplifikację fragmentów zawierających wykryte Snipy, mikrosekwencjonowanie i półautomatyczną analizę wyznakowanych fluorescencyjnie produktów metoda elektroforezy kapilarnej.

Wyniki publikacji VI wskazują na silny związek zmutowanych alleli genu *FAD3* z zawartością kwasu linolenowego w oleju rzepakowym, ponieważ stwierdzono 35,6% zmienności fenotypowej dla badanej cechy związanej z mutacją w genomie A (gen *banA.fad3*), 39,3% w przypadku genomu C (gen *banC.fad3*) oraz 53,2% w obecności mutacji dla obydwu genów.

Publikacja VII to rozdział książki, która poniekąd jest zwięźczeniem wyników prac opublikowanych wcześniej w pracach III i V. Przedstawiono oryginalny test – określony jako fluorescencyjny PCR wielokrotny, umożliwiający jednoczesną identyfikację markerów molekularnych SCAR-CMS dla męsko-sterylnej cytoplazmy typu *ogura*, SCAR-C02 dla genu restorera *Rfo*, a także SNaPshot dla niezmutowanych i zmutowanych alleli desaturazy *FAD3* w genomach A i C, z włączeniem kontroli wewnętrznej, tj. fragmentu genu *aktyny 7 B. napus*. W tym celu obie wymienione analizy zostały zmodyfikowane: w pierwszej zaprojektowano nowe pary starterów aby otrzymać krótsze znakowane fluorescencyjnie amplikony, natomiast w drugiej zmieniono startery do preamplifikacji w celu zwiększenia specyficzności uzyskanych produktów PCR.

Podsumowując, rozprawa habilitacyjna, składa się 5 oryginalnych prac twórczych, 1 monografii i 1 pracy przeglądowej, dla których sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) publikacji wynosi 4,42; publikacje cytowano 2-krotnie (nie uwzględniając autocytowań), a współczynnik Hirscha osiągnął wartość 1. Trzy z tych prac zostały opublikowane w nieindeksowanym przez Filadelfijski Instytut Informacji Naukowej czasopiśmie krajowym *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, co przekłada się na ich niewielkie oddziaływanie na środowisko naukowe i skromne współczynniki bibliometryczne. Mają jednak istotne znaczenie aplikacyjne. Natomiast, trzy inne prace zostały opublikowane w dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym (*Journal of Applied Genetics* oraz *Plant Breeding*), których liczba cytowań powinna wzrastać wraz z upływem czasu. Moim zdaniem, publikacje III, V i VII należy zaliczyć do najwartościowszych publikacji, ze względu na ich znaczący wkład w poszerzanie metod hodowli roślin poprzez zastosowanie i wdrożenie do praktyki innowacyjnych rozwiązań selekcji materiałów hodowlanych w oparciu o markery molekularne.

III. Wniosek końcowy

Na podstawie dokonanej analizy dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa dr Katarzyny Mikołajczyk pt. „Markery genetyczne w programach hodowli rzepaku” spełnia wymogi stawiane pracom habilitacyjnym w Ustawie o tytułach i stopniach naukowych. W związku z tym wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowego Instytut Badawczy o dopuszczenie dr Mikołajczyk do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Dr hab. Paweł Czembor, prof. nzw. IHAR-PIB