

Szczecin, 6 sierpnia 2018

prof. dr hab. Piotr Masojć

Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

71-434 Szczecin, ul. Słowackiego 17

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Hary-Skrzypiec pt. : „Analiza genetyczna odporności na ciemną plamistość poudzerzeniową oraz wybranych cech jakości i morfologii bulw diploidalnych mieszańców ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.)”

Rozprawę doktorską stanowi zbiór trzech oryginalnych prac twórczych opublikowanych w czasopismach międzynarodowych z listy JCR, który opatrzone streszczeniem, wstępem, przeglądem literatury, opisem celu badań, użytych materiałów roślinnych i metod badawczych, opisem wyników, podsumowaniem, wnioskami i spisem literatury.

Praca reprezentuje badania podstawowe z zakresu genetyki ziemniaka i obejmuje genetykę cech o dużym znaczeniu dla hodowli tego gatunku. Z tego względu praca należy do dyscypliny agronomii i obszaru nauk rolniczych. Cechami użytkowymi są tu cechy jakościowe istotne dla komercyjnej wartości bulw ziemniaka jak i produktów finalnych przeznaczonych do bezpośredniego spożycia lub w formie chipsów, czy frytek. Badania skoncentrowane są na wyjaśnieniu genetycznego podłoża ciemnej plamistości poudzerzeniowej, enzymatycznego ciemnienia miąższu, zawartości skrobi, barwy miąższu, kształtu i regularności zarysu bulwy, głębokości oczek i średniego ciężaru bulwy. Cele pracy osiągnięto dzięki wykorzystaniu metody mapowania molekularnego markerami DArT oraz mapowania QTL.

W pierwszej publikacji cyklu pt. „Diploid potato hybrids as sources of resistance to blackspot bruising”, która ukazała się w roku 2013 w czasopiśmie *American Journal of Potato Research*, spośród 31 klonów diploidalnych mieszańców różnych gatunków wyjściowych ziemniaka, będących zaawansowanym pokoleniem hodowli rekombinacyjnej, wyodrębniono genotypy o

wysokiej odporności na ciemną plamistość poudzerzeniową oraz takie, które kontrastowo wykazywały silną podatność na mechaniczne urazy. Przeprowadzona analiza zróżnicowanych genetycznie materiałów ziemniaka diploidalnego wykazała negatywną zależność między ciemną plamistością poudzerzeniową a zawartością skrobi. Natomiast nie stwierdzono korelacji między zawartością L-tyrozyny głównego substratu reakcji prowadzących do ciemnienia a skłonnością bulw do ciemnienia. Rezultaty uzyskane w pierwszej pracy pozwoliły na wybór komponentów rodzicielskich do utworzenia populacji mapującej służącej do właściwych badań genetycznych nad cechami jakościowymi.

Druga publikacja pt. „Quantitative trait loci for tuber blackspot bruise and enzymatic discoloration susceptibility in diploid potato”, wydana w roku 2018 w periodyku *Molecular Genetics and Genomics*, przedstawia wyniki mapowania QTL dla cech ciemnej plamistości poudzerzeniowej i enzymatycznego ciemnienia miąższu oraz zawartości skrobi. Otrzymano populację mapującą F1 między liniami DG 06-5 (wrażliwa) a DG 03-226 (odporna) liczącą 149 osobników, na której opracowano mapy markerów pierwszego rodzica, drugiego rodzica oraz mapę wspólną liczącą 1359 markerów DArT o całkowitej długości 972 cM. Mapowanie QTL na podstawie dwuletnich pomiarów dało przekonujące wyniki biorąc pod uwagę wysokie wartości LOD i R^2 . Stwierdzono złożone uwarunkowanie genetyczne zmienności badanych cech, co przejawiało się rozmieszczeniem licznych QTL na mapach różnych chromosomów ziemniaka. Obserwowano wspólne QTL dla ciemnej plamistości poudzerzeniowej ocenianej dwoma metodami oraz dla enzymatycznego ciemnienia miąższu i zawartości skrobi na chromosomach I, V i VIII. Jak słusznie zauważyła autorka kolokalizacja QTL może być źródłem istotności korelacji cech. Ponadto, szereg odrębnych QTL dla zawartości skrobi wykryto na chromosomach III, IX i X oraz dla enzymatycznego ciemnienia miąższu na chromosomach VII, VIII i X. Pokazuje to specyficzność genetyczną i częściową niezależność badanych cech. Zastosowane podejście genów kandydatów nie pozwoliło na jednoznaczne przypisanie markerów konkretnych genów do poszczególnych QTL dla ciemnej plamistości poudzerzeniowej. Natomiast udało się zlokalizować marker genu oksydazy polifenolowej w obrębie QTL dla enzymatycznego ciemnienia miąższu na chromosomie VIII oraz marker genu AGP-azy S w bliskości QTL dla enzymatycznego ciemnienia miąższu i zawartości skrobi na chromosomie I.

W trzeciej publikacji pt.: „QTL for tuber morphology traits in diploid potato” wydanej w roku 2018 w czasopiśmie *Journal of Applied Genetics*, przedstawiono wyniki mapowania QTL dla pięciu cech morfologicznych bulw przeprowadzone na tej samej co uprzednio

populacji mapującej i mapie DArT na danych fenotypowych z doświadczenia trzyletniego. Wyniki badań są dobrze udokumentowane, gdyż otrzymane QTL są wysoce istotne biorąc pod uwagę parametry LOD i R^2 . Uzyskane wyniki świadczą o kompleksowym charakterze podłoża genetycznego tych cech. I tak QTL dla zabarwienia miąższu stwierdzono na chromosomie II i III, dla kształtu bulwy – na chromosomie X, dla regularności kształtu bulwy – na chromosomie III, dla głębokości oczek na chromosomie IV a dla ciężaru bulwy – na chromosomie I. Poza wymienionymi głównymi QTL dla każdej z cech znaleziono także szereg mniej znaczących QTL na różnych chromosomach ziemniaka. Na uwagę zasługują zachodzące na siebie lokalizacje QTL dla kilku cech naraz jak dla ciężaru bulwy, kształtu bulwy, głębokości oczek i koloru miąższu na chromosomie I oraz wspólne dla kilku cech QTL na chromosomach III i IV. Według autorki jest to przypuszczalnie podłoże genetyczne stwierdzanej korelacji cech. Na pozostałych chromosomach wykryto QTL specyficzne dla każdej cechy.

Wyniki rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Hara-Skrzypiec reprezentują wysoki poziom naukowy poparty stosowaniem właściwej metodyki oceny fenotypowej i mapowania QTL z wykorzystaniem nowoczesnych narzędzi doświadczalnictwa rolniczego, bioinformatyki, właściwych, dobrze dobranych metod statystycznych i programów komputerowych. Opracowanie wyników jest staranne i wyważone. Tabele i rysunki prezentują rezultaty prac w sposób jasny i wyczerpujący. Rozprawa jest napisana poprawnym, jasnym językiem, nie sprawia trudności w odbiorze. Doktorantka poprzez wykorzystanie bogatej światowej literatury przedmiotu w liczbie 128 pozycji, wykazała swoje wszechstronne zrozumienie złożonego obszaru swoich badań, w którym uwzględniła zagadnienia takie jak wpływ zmienności środowiskowej na badane cechy, interakcję genotyp-środowisko, odziedziczalność cech, zakresy zmienności i właściwy dobór materiałów genetycznych do badań. Wnioski z pracy są jasno i precyzyjnie sformułowane, dają właściwą interpretację osiągniętych głównych wyników badań. Dobrze, syntetycznie zredagowano także streszczenie i podsumowanie wyników.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy są wydane w międzynarodowych czasopismach naukowych o uznanej renomie, reprezentują wysoki poziom wartości współczynnika wpływu IF 1,16-2,73 a na podkreślenie zasługuje fakt iż w każdej z prac doktorantka jest pierwszym i zarazem korespondencyjnym autorem o największym udziale w badaniach i pisaniu publikacji.

Z obowiązku recenzenta chciałbym prosić Doktorantkę o ustosunkowanie się do kilku uwag, które nasunęły mi się w trakcie analizowania wyników pracy.

1. O ile w obrębie publikacji 2 i 3 cyklu analizowane jest kolokalizowanie się QTL różnych cech, o tyle brak takiej analizy porównawczej między publikacjami. Wykonanie takiej analizy jest przecież możliwe z uwagi na zastosowanie w obu badaniach tej samej populacji mapującej i tej samej mapy molekularnej.
2. Rozległy zasięg niektórych QTL obejmujący kilkadziesiąt cM sugeruje istnienie szeregu sprzężonych loci warunkujących cechę, rozmieszczonych wzdłuż chromosomu. Jaką interpretację przyjmuje tu autorka?
3. Czy w ramach stosowanych programów do mapowania QTL możliwa była analiza interakcji między różnymi QTL dla poszczególnych cech lub czy literatura przedmiotu donosi o przypadkach takich interakcji?

Podsumowując, uważam przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską mgr inż. Agnieszki Hary –Skrzypiec za wartościowe opracowanie naukowe, które stanowi ważny i oryginalny wkład w genetykę istotnych cech jakościowych ziemniaka i mieści się w dyscyplinie agronomii. Stwierdzam, że praca spełnia wymogi Ustawy z dnia 14 marca 2013 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki – Dz. U. Nr 65 poz. 595, z późniejszymi zmianami. Wnoszę do Rady Naukowej IHAR-PIB w Radzikowie o dopuszczenie mgr inż. Agnieszki Hary-Skrzypiec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Piotr Masojć