

Kraków, 18 maja 2014 r.

Prof. dr hab. Maria Wędzony

Zakład Biologii Komórki i Genetyki

Uniwersytet Pedagogiczny im Komisji Edukacji Narodowej

Ul. Podchorążych 2, 30-084 Kraków

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Ewy Ciszkowicz

Mapowanie genów odporności na mączniaka prawdziwego u odmian pszenżyta ozimego 'Lamberto' i 'Grenado'

wykonanej w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Wydziału Chemicznego Politechniki
Rzeszowskiej pod opieką promotorską dr hab. inż. Mirosława Tyrki, prof. PRz.

Pani mgr Ewa Ciszkowicz podjęła w swojej pracy bardzo trudne zadanie mapowania genów cechy ilościowej, jaką jest odporność na infekcję patogennym grzybem, mączniakiem prawdziwym (*Blumeria graminis*), u pszenżyta ozimego (*xTriticosecale*). Wykorzystała do tego celu dwie segregujące populacje mieszańców zwrotnych, pokolenie F_2 i rodziny F_3 , pomiędzy odmianami 'Lamberto' (odmiana podatna na infekcję *B. graminis*) i 'Grenado' (stosunkowo odporna na infekcję tym patogenem). Złożoność tematu związana jest z wielogenową kontrolą odporności, która ponadto ma charakter nietrwały ze względu na częste mutacje grzyba i przełamywanie przez niego kolejnych barier odporności. Ponadto konstrukcja mapy genetycznej markerów pszenżyta może być uznana za przedsięwzięcie pionierskie, ze względu na niewielką liczbę opublikowanych dotąd map genetycznych pszenżyta oraz niestabilność genetyczną tego młodego gatunku, która owocuje licznymi rearanżacjami w obrębie genomu. Z tego trudnego zadania Pani mgr. Ciszkowicz wywiązała się bardzo dobrze, a praca jej dostarcza wiele cennych danych i dobrze udokumentowanych wniosków będących ważnym krokiem w poznawaniu funkcjonowania genomu pszenżyta. Dodatkowo, cennym aspektem pracy jest analiza wpływu kierunku krzyżowania, a co za tym idzie wpływu cytoplazmy na ekspresję genomu.

Rozprawa doktorska licząca razem z aneksem 144 strony podzielona jest na typowe dla tego rodzaju prac rozdziały. Na początku pracy Autorka zamieściła wykaz zastosowanych skrótów. Rozdziały pracy to: „Wstęp i przegląd piśmiennictwa” (34 strony), zwięzły „Cel pracy”, „Materiał i metody” (11 stron), „Wyniki” (27 stron), „Dyskusja” (10 stron), „Wnioski końcowe” (2 strony), „Bibliografia” licząca 280 pozycji i 8 stron internetowych, „Streszczenie” i „Summary” w języku angielskim (każde po 1 stronie), oraz obszerny, 24-stronicowy aneks obejmujący charakterystykę wykorzystanych markerów i mapy genetyczne genomów A, B i R analizowanych populacji porównane z mapami referencyjnymi. O ile charakterystyka markerów DArT to dane dostarczone przez firmę Diversity Array Technology, to analiza porównawcza genomów z mapami referencyjnymi jest niewątpliwie częścią „Wyników” i znajduje tam odwołania.

Tytuł pracy zasadniczo odpowiada jej zawartości, ale jest nieściśły. Autorka pisze o mapowaniu genów, podczas gdy mapuje QTL w oparciu o mapę markerów DNA typu DArT i SSR. Można to uznać za dopuszczalny skrót myślowy. W tytule brakuje nazw łacińskich gatunków, patogenu i rośliny gospodarza, będących przedmiotem pracy.

Wstęp jest obszerny i wyczerpujący. Autorka charakteryzuje organizmy będące przedmiotem badań i wprowadza czytelnika w zagadnienia związane ze zjawiskami odporności, przytacza dane dotyczące badań nad odpornością gatunków pokrewnych, pszenicy i żyta, na infekcję mączniakiem prawdziwym, oraz charakteryzuje mapy genetyczne oparte o markery DNA i analizę położenia QTL na tych mapach. Za cenną uważam pracę włożoną w konstrukcję Tabeli 1.1, w której Autorka zestawia dane dotyczące 73 markerów pszenicy i 9 markerów żyta sprzężonych ze znanymi genami odporności na mączniaka. Nieczytelne w tabeli 1.1 pozostaje umieszczenie dwóch kolumn zatytułowanych „Referencje” (kolumna 6 i 9), o odmiennej zawartości. Proszę autorkę o wyjaśnienie znaczenia danych referencyjnych zawartych w tych kolumnach.

Układ tytułów i podtytułów zawiera kilka błędów redakcyjnych. Wstęp (nie opatrzony numerem) zawiera jeden podrozdział z numerem głównym „1. Przegląd piśmiennictwa”. Wydzielenie jednego podrozdziału błędnie sugeruje, że w zamierzeniu miało ich być więcej. Podobnie podrozdział „Przeglądu Piśmiennictwa” zatytułowany „1.3 Odporność roślin” zawiera jeden podrozdział niższego rzędu „1.3.1 Odporność roślin warunkowana czynnikami

genetycznymi”, co sugeruje, że Autorka miała zamiar również omówić odporność warunkowaną innymi czynnikami (jakimi?). Podrozdział „1.2 *Blumeria graminis* – patogen grzybowy pszenżyta” zdaje się sugerować, że omawiany grzyb w szczególny sposób związany jest z pszenżytem, podczas gdy jest to patogen wszystkich zbóż i traw, co też Pani Ciszkowicz dokładnie omawia w tym rozdziale posługując się szeroko przykładami z innych gatunków. W rzeczywistości prac poświęconych mączniakowi właściwemu na pszenżycie jest bardzo niewiele, co dodaje wagi studiom nad tym zagadnieniem opisanym w przedłożonej rozprawie. Wspomniane niedociągnięcia należy uznać za drobne i nie utrudniają one w zasadniczy sposób zrozumienia treści tego rozdziału.

Pani mgr E. Ciszkowicz formułuje kilka celów pracy o charakterze poznawczym i kilka o potencjale aplikacyjnym. Wypowiedź jest nieco zagmatwana. Proszę Autorkę o podjęcie próby bardziej jednoznacznego zdefiniowania celów wykonanej pracy, jeżeli to możliwe z uwzględnieniem celu nadrzędnego (głównego) i celów pośrednich. Czy w pracy wymieniła Pani wszystkie cele, do których zmierzały Pani doświadczenia i analizy?

Wyniki przedstawione są wystarczająco obszernie, uwzględniając również dane zawarte w Aneksie. Niepotrzebne jest zamieszczenie schematów chromosomów na rycinie 4.9 i 4.10, gdyż powtórzone są również w Aneksie. Pomniejszenie chromosomów na rycinach spowodowało utratę czytelności rycin, co uważam za dużą stratę. Również nieczytelne są symbole markerów na wykresach przedstawiających krzywe LOD. Tytuły niektórych tabel i wykresów nie są wystarczająco precyzyjne by zrozumieć ich zawartość bez uciekania się do tekstu zawartego w pracy, co należy poprawić przygotowując publikację do druku.

Moje zastrzeżenia budzi próba analizy sposobu dziedziczenia odporności w oparciu o hipotezy o rozkładzie jednogenowym i dwugenowym (str. 68-69). Bardzo proszę, by Autorka wyjaśniła na jakiej podstawie sformułowała te hipotezy. Czy uważa, że wyniki fenotypowania uzyskane w jednokrotnym doświadczeniu na stosunkowo niewielkiej populacji uzasadniają postawione wnioski? Jakie dalsze doświadczenia autorka może zaproponować, by uwiarygodnić lub obalić postawione hipotezy? Proszę też o wyjaśnienie sprzeczności pomiędzy wnioskami o jedno i dwugenowym dziedziczeniu, a znacznie większą liczbą stwierdzonych QTL położonych na różnych chromosomach populacji mapujących.

Syntetyczna dyskusja jest najmocniejszą częścią rozprawy. Autorka z dużą precyzją analizuje uzyskane wyniki na tle literatury przedmiotu i podsumowuje wyniki swojej pracy. Dyskusyjne jest umieszczenie Tabeli 5.2 w ramach dyskusji, powinna być przedstawiona w ramach wyników.

Bardzo interesującym wynikiem jest uzyskanie innych QTL w zależności od kierunku krzyżowania w populacji. Autorka aspekt ten omawia dość skąpo i interpretuje zjawisko, jako wpływ cytoplazmy na ekspresję genomu. Czy jest to jedyna możliwa interpretacja?

Wyniki zaprezentowane w pracy należy uznać za niezwykle interesujące.

Skonstruowano mapę genetyczną dwukierunkowej populacji pszenżyta ozimego o całkowitej długości 1816,6 cM złożonej z 547 markerów DArT i 7 markerów SSR. Zidentyfikowane zostały 2 translokacje niehomeologiczne. Zidentyfikowano 2 istotne QTL na chromosomach 1R i 6R objaśniające odpowiednio 15 i 33.4% zmienności cechy w stadium rośliny dojrzałej. Istotne efekty lokalizowano również na chromosomach 1R i 6R w stadium siewki. Ponadto stwierdzono 3 loci o mniej istotnym wpływie na chromosomach 2A2, 3A (prawdopodobne powiązanie z genami *Pm50* i *Pm4*) i 1B (gen *Pm39*). Uzyskane wyniki dostarczyły nowych danych na temat wpływu kierunku krzyżowania na dziedziczenie i/lub ekspresję genów u mieszańców pszenżyta. Zagadnienie to o ważnym znaczeniu dla genetyki i hodowli niewątpliwie wart jest dalszych badań.

Rozprawę doktorską Pani Ewy Ciszkowicz należy uznać za samodzielne rozwiązanie problemu badawczego przy użyciu adekwatnej i nowoczesnej metodyki, co jest warunkiem ustawowym stawianym rozprawom doktorskim.

Biorąc pod uwagę wszystkie aspekty przedstawionej mi do recenzji rozprawy stwierdzam, iż spełnia ona wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim w Artykule 13 Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki. W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Ewy Ciszkowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



/Maria Wędzony/