

dr hab. Edyta Paczos-Grzęda  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

Lublin, 30.07.2021 r.

DZIEKANAT WYDZIAŁU  
BIOTECHNOLOGII I OGRODNICTWA

Wpłynęło dnia ..... 5.08.2021r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej magister Katarzyny Stelmach  
pt. „Analiza dystrybucji transpozonów *DcSto* w genomie marchwi  
oraz wykorzystanie polimorfizmu ich insercji do analizy struktury genetycznej  
populacji marchwi uprawnej (*Daucus carota* subsp. *sativus*)**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Stelmach została wykonana pod kierunkiem Pana profesora dr hab. inż. Dariusza Grzebelusa oraz dr inż. Alicji Macko-Podgórnij jako promotora pomocniczego w Katedrze Biologii Roślin i Biotechnologii, Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie w ramach programu badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, pt. „Opracowanie i wykorzystanie wysokowydajnych technik selekcji genomowej w doskonaleniu warzyw”. Praca realizowana była w latach 2014-2020 w trakcie studiów doktoranckich prowadzonych w Studium Doktoranckim Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie.

Podstawą ocenianej dysertacji są trzy oryginalne publikacje naukowe oraz poprzedzające je polskojęzyczne opracowanie. Przedstawione do oceny publikacje ukazały się w latach 2017 – 2021 w recenzowanych, międzynarodowych czasopismach, indeksowanych w bazie JCR (*Journal Citation Reports*) oraz umieszczonych w wykazie czasopism naukowych MEN. Współczynnik wpływu (IF, impact factor) tych prac waha się od 3,161 do 4,171. Sumaryczny IF czasopism, w których opublikowano prace wynosi 10,775, natomiast suma punktów MEN (wg komunikatu MEN w sprawie wykazu czasopism naukowych z dnia 9 lutego 2021 r.) to 380. W dwóch pracach Doktorantka jest pierwszym, w jednej drugim autorem. Biorąc pod uwagę



wymóg prawny oceny indywidualnego wkładu Doktorantki w powstanie publikacji (Dz U 2014, poz 1383; §6 ust. 5 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października 2014 w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora) i uwzględniając zarówno pisemne oświadczenia złożone przez wszystkich współautorów opublikowanych prac, jak i wkład poszczególnych autorów w proces powstawania prac określony w deklaracjach wkładu zawartych w tekstach publikacji, można stwierdzić, że rola Doktorantki w planowaniu, wykonywaniu i opracowaniu otrzymanych wyników badań, szczególnie opublikowanych w czasopiśmie *Frontiers in Plant Science* i *BMC Plant Biology*, była istotna, gdyż Pani Katarzyna Stelmach uczestniczyła w każdym etapie pracy koncepcyjnej, eksperymentalnej i edytorskiej. Znaczący wkład Doktorantki w postawienie prac nie budzi wątpliwości.

Należy podkreślić, że wchodzące w skład rozprawy doktorskiej publikacje są tematycznie spójne i dotyczą: (1) identyfikacji insercji i charakterystyki dystrybucji *DcSto*, ruchomych elementów genetycznych *Stowaway*-like, w obrębie sekwencji kodujących genomu referencyjnego oraz 31 resekwencjonowanych genomów marchwi; (2) opracowania panelu markerów molekularnych typu ILP opartych na polimorfizmie insercji *DcSto*; a następnie (3) ich wykorzystania do analizy struktury zmienności genetycznej kolekcji odmian populacyjnych marchwi uprawnej. Tematyka badawcza podjęta przez Doktorantkę doskonale wpisuje się w zakres naukowych zainteresowań zespołu badawczego, kierowanego przez Pana Profesora Dariusza Grzebelusa, w którym Doktorantka realizowała badania.

W pierwszej pracy wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej, opublikowanej w renomowanym czasopiśmie *Frontiers in Plant Science*, opracowano i zwalidowano panel markerów molekularnych opartych na aktywności transpozycyjnej elementów *DcSto* w genomie marchwi. Do opracowania markerów identyfikujących polimorfizm długości intronów (ILP) wykorzystano 209 insercji transpozonów *DcSto*, zaś ostatecznie do opracowania panelu do genotypowania marchwi uprawnej wybrano 90 markerów DcS-ILP. Użyteczność markerów w analizie struktury zmienności genetycznej marchwi zweryfikowano poprzez genotypowanie kolekcji 27 roślin reprezentujących odmiany uprawne i formy dzikie. Analiza STRUCTURE wykazała możliwy związek pomiędzy strukturą zmienności genetycznej a obserwowanym kształtem korzenia spichrzowego.



Głównym celem badań zaprezentowanych w drugiej pracy, opublikowanej w czasopiśmie *Mobile DNA*, było wykorzystanie 14 rodzin transpozonów *DcSto* do analizy TEASV (TE-associated structural variation) w 31 resekwencjonowanych genomach reprezentujących cztery pule genetyczne marchwi - uprawną typu zachodniego i wschodniego oraz dziką o pochodzeniu europejskim i azjatyckim. Przeprowadzono szczegółową anotację insercji elementów *DcSto* i przeanalizowano ich dystrybucję w genomie marchwi. Zidentyfikowano 18 518 miejsc insercji *DcSto* w 31 resekwencjonowanych genomach marchwi, spośród których tylko dwa były obecne w każdym z nich, zaś 22 były charakterystyczne dla marchwi uprawnej. Liczba insercji przypadająca na genom marchwi wahała się od 468 do 1978. Na podstawie analizy PCoA opartej na polimorfizmie insercji *DcSto* w resekwencjonowanych genomach wyodrębniono cztery pule genetyczne: uprawną zachodnią, uprawną wschodnią, dziką zachodnią oraz dziką wschodnią.

Celem trzeciej pracy, opublikowanej w *BMC Plant Biology*, była detekcja struktury zmienności genetycznej leżącej u podstaw różnic fenotypowych obserwowanych u odmian populacyjnych marchwi typu zachodniego reprezentujących różne typy korzenia spichrzowego. Do genotypowania użyto 93 markery DcS-ILP, opublikowane w pierwszej z prac składających się na rozprawę doktorską, oraz 2354 markery SNP równo rozdystrybuowane na dziewięciu chromosomach marchwi. Analiza struktury zmienności genetycznej przeprowadzona z wykorzystaniem oprogramowania STRUCTURE, dla kolekcji 390 roślin reprezentujących 11 predefiniowanych klas wskazała na obecność trzech, czterech lub siedmiu klastrów w przypadku genotypowania markerami DcS-ILP oraz trzech, czterech lub pięciu klastrów przy genotypowaniu markerami SNP. Odmiany reprezentujące klasę Amsterdam i Chantenay tworzyły odrębne klastry niezależnie od wykorzystanego systemu markerowego. Wyniki grupowania *de novo* metodą analizy DAPC (Discriminant Analysis of Principal Components) wskazały na istnienie ośmiu grup genetycznych w obrębie analizowanej kolekcji odmian, niezależnie od zastosowanego systemu markerowego.

Zawarte w rozprawie doktorskiej opracowanie poprzedzające cykl publikacji liczy 30 stron i obejmuje poza stroną tytułową, kartą dyplomową, oświadczeniem autorki, umowami licencyjnymi i podziękowaniami dla promotora i pracowników Katedry Biologii Roślin i Biotechnologii, następujące rozdziały: Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, Wykaz używanych skrótów i terminów, Streszczenie, Summary, Przegląd literatury, Hipotezy badawcze i cele prowadzonych badań, Materiały i metody, Najważniejsze



wyniki przeprowadzonych badań, Podsumowanie, Spis literatury. W dalszej części znajdują się wydruki publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz oświadczenia dotyczące udziału Doktorantki i współautorów w powstawaniu prac.

W rozdziale 'Przegląd literatury' Autorka scharakteryzowała ruchome elementy genetyczne, ze szczególnym uwzględnieniem transpozonów typu MITE, omówiła ich rolę w ewolucji genomów oraz możliwość zastosowania w technikach markerowych. W rozdziale znalazły się również informacje na temat rodzaju *Daucus* i gatunku *Daucus carota* L. subsp. *sativus* oraz ruchomych elementów w genomie marchwi.

W rozdziale czwartym przedstawiono trzy hipotezy badawcze, które postawiono w pracy oraz trzy cele badawcze, których realizacja miała umożliwić weryfikację hipotez. Jak wspomniano wcześniej praca miała na celu analizę polimorfizmu dystrybucji insercji transpozonów *DcSto* w obrębie sekwencji kodujących genomu referencyjnego marchwi i 31 resekwencjonowanych genomów, a następnie wykorzystanie tej zmienności do opracowania systemu markerowego, który mógłby stanowić narzędzie do charakterystyki zmienności genetycznej marchwi uprawnej z zachodniej puli genetycznej. Celem pracy była również porównawcza analiza struktury zmienności genetycznej wynikającej z polimorfizmu SNP oraz ILP w kolekcji odmian populacyjnych marchwi uprawnej typu zachodniego.

W rozdziale piątym Autorka przedstawiła zestawienie, bardzo obszernego, doskonale dobranego i scharakteryzowanego, materiału roślinnego wykorzystanego w poszczególnych pracach, zaś do szczegółowego opisu metod badawczych odesłała do 'Materials and Methods' w każdej z publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej. Rozdział szósty obejmuje opis wyników uzyskanych w poszczególnych publikacjach, zaś w siódmym Autorka przedstawia podsumowanie i prezentuje pięć wniosków sformułowanych na podstawie przeprowadzonych dań. Opracowanie kończy spis literatury obejmujący 55 pozycji.

W trakcie literatury wchodzących w skład rozprawy doktorskiej publikacji, które były już uprzednio recenzowane, nie znalazłam elementów problematycznych. Prace stanowią logiczny i spójny układ, są napisane w sposób zrozumiały, cele są jasno sformułowane, materiały i metody przedstawione ze starannością i dbałością o szczegóły, wyniki zostały opracowane z wykorzystaniem właściwych narzędzi analizy molekularnej i biostatystycznej oraz prezentacji graficznej, również dyskusję i wnioskowanie przeprowadzono w każdej z prac prawidłowo. Badania przedstawione w publikacjach mają charakter nowatorski, a ich wartość naukowa jest bardzo wysoka.



Spostrzeżenia i uwagi dotyczące rozprawy doktorskiej:

1. W mojej ocenie praca została przygotowana w sposób staranny i właściwie nie ma w niej wyraźnych błędów, jedyne czego nie udało się uniknąć, to sporadyczny brak znaków interpunkcyjnych, spacji czy pomyłkowe powtórzenia wyrazów. Pojawiają się również dwie wersje tytułu rozprawy. Nie umniejsza to jednak w żaden sposób wartości pracy.

2. To co zwróciło moją uwagę, ale jest chyba znakiem czasów, bo coraz częściej zdarza się w pracach naukowych, to niepełne nazewnictwo gatunków. Naukowa nazwa gatunku składa się z nazwy rodzaju i nazwy gatunku opatrzonej na końcu trzecim elementem – nazwiskiem autora (autorów) tej nazwy np. *Daucus carota* L. Nazewnictwo takie wprowadził Karol Linneusz w 1735 r. Uważam, że zgodnie z zasadami pisania prac naukowych przy pierwszorazowym użyciu nazwy gatunkowej należy podać pełną nazwę rodzajową i skrót nazwiska autora. Kolejne użycie pozwala na stosowanie skrótu nazwy rodzajowej i pełnej nazwy gatunkowej z pominięciem nazwiska autora. Trudno jednak z tym dyskutować, gdyż takie nazewnictwo pojawia się zarówno w recenzowanych publikacjach wchodzących w skład rozprawy, jak i w wielu innych publikacjach naukowych na temat tego gatunku.

Pytania dotyczące pracy:

1. Czy insercje transpozonów *DcSto* oprócz znacznych różnic strukturalnych w obrębie sekwencji kodujących genomu marchwi odpowiedzialne są za różnice funkcjonalne?
2. Czy wg Doktorantki w dobie szybkiego i taniego sekwencjonowania umożliwiającego wykrycie w jednym eksperymencie dziesiątek tysięcy SNP takie metody analizy zróżnicowania genetycznego jak DcS-ILP mogą być konkurencyjne? Czy dane, które uzyskujemy z zastosowaniem tego systemu markerowego, są aż tak różne od SNP?
3. Wyniki prezentowane w pracy uzyskano w ramach projektu z postępu biologicznego w produkcji roślinnej. Jeżeli przyporządkujemy obiekty do poszczególnych grup czy też pul genowych i określimy zróżnicowanie w ich obrębie to co nam to daje oprócz satysfakcji naukowej? Czy przekłada się to na konkretne wskazania dla hodowców, którzy chcieliby wykorzystać te informacje w procesie hodowlanym? Czy dzika marchew jest wykorzystywana jako źródło korzystnych genów, np. odporności na choroby, dla odmian uprawnych? Czy uzyskane w ramach pracy wyniki przybliżają nas do zastosowania selekcji genomowej w hodowli marchwi?



Za najważniejsze osiągnięcia rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Katarzyny Stelmach uznaję: (1) poszerzenie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego dystrybucji ruchomych elementów typu MITE w genomie marchwi oraz wskazanie potencjalnej możliwości wykorzystania polimorfizmu insercji elementów *DcSto* w ocenie struktury zmienności genetycznej populacji marchwi; (2) wyodrębnienie w oparciu o analizę polimorfizmu insercji transpozonów *DcSto* czterech puli genetycznych marchwi odzwierciedlających zasięg występowania oraz status udomowienia; (3) dokonanie najpełniejszej dotychczas charakterystyki struktury zmienności genetycznej marchwi uprawnej typu zachodniego; a przede wszystkim (4) opracowanie wydajnego narzędzia do analizy zmienności genetycznej marchwi umożliwiającego identyfikację markerów kodominujących.

Podsumowując, rozprawę doktorską Pani mgr inż. Katarzyny Stelmach oceniam bardzo wysoko. Stanowi ona oryginalne, spójne i kompleksowe opracowanie poszerzające aktualny stan wiedzy. Należy podkreślić, że zastosowane metody badawcze z pogranicza genetyki, genomiki, biologii molekularnej i biostatystyki są bardzo nowoczesne. Uzyskane wyniki badań przedstawiają nie tylko wartość poznawczą, ale dostarczają narzędzi, możliwych do wykorzystania przez inne zespoły badawcze zajmujące się analizą molekularną gatunków z rodzaju *Daucus*.

#### WNIOSEK KOŃCOWY

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Katarzyny Stelmach pt. 'Analiza dystrybucji transpozonów *DcSto* w genomie marchwi oraz wykorzystanie polimorfizmu ich insercji do analizy struktury genetycznej populacji marchwi uprawnej (*Daucus carota* subsp. *sativus*)' spełnia warunki określone w artykule 13 Ustawy 1 z dnia 14.03.2003 r. o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki (Dz.U. z 2003 r., Nr 65, poz. 595, wraz z późniejszymi zmianami), jak również zapisy Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz.U. z 2018r. poz. 1668) stawiane rozprawom doktorskim, dlatego też zwracam się do Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie z prośbą o dopuszczenie Pani mgr inż. Katarzyny Stelmach do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na bardzo wysoką wartość merytoryczną pracy wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.

Edyta Pawos-Gugala

