

Gdańsk, dnia 1 grudnia 2014

**Prof. dr hab. Ewa Łojkowska**  
**Zakład Ochrony i Biotechnologii Roślin**  
**Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii**  
**Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku**  
**Kładki 24, 80-822 Gdańsk**

**Recenzja rozprawy doktorskiej Abdel-Rahman Moustafa Abdel-Wahab Mohameda  
zatytuowanej: „The genetic map of strawbery (*Fragaria x ananassa*)  
based on ‘Elsanta’ x ‘Senga Sengana’ mapping population”**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pana Abdel-Rahman Moustafa Abdel-Wahab Mohameda, wykonana pod kierunkiem Pani profesor dr hab. Małgorzaty Korbin i promotora pomocniczego Pani dr Sylwii Keller-Przybyłkiewicz w Pracowni Niekonwencjonalnych Metod Hodowli Zakładu Hodowli Roślin Sadowniczych Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach, jest napisana w języku angielskim. Rozprawa obejmuje 108 stron maszynopisu i zawiera 4 tabele i 12 rycin. Tekst recenzowanej pracy doktorskiej obejmuje istotne i wymagane części składowe tj. wstęp, przegląd literatury, materiały i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, streszczenie w języku angielskim i polskim oraz spis literatury.

Przedstawiona do oceny rozprawa napisana jest jasnym i klarownym językiem, wyniki badań są dobrze udokumentowane, a całość reprezentuje nowoczesny kierunek badawczy polegający na wykorzystaniu markerów molekularnych otrzymanych na podstawie analizy populacji mapującej uzyskanej z krzyżowania dwóch odmian truskawki: Elsanta i Senga Sengana do konstrukcji mapy genetycznej truskawki (*Fragaria x ananassa*).

W rozdziale **Introduction** doktorant opisał znaczenie gospodarcze, zróżnicowanie genetyczne, wysoką heterozygotyczność oraz zdolności do wzrostu i plonowania w szerokim zakresie warunków agro-technicznych i klimatycznych truskawki. Podkreślił także zdolność roślin z tej heterogennej pod względem genetycznym grupy do plonowania w warunkach różnego rodzaju stresu abiotycznego i biotycznego. Pan Abdel-Rahman Moustafa Abdel-Wahab Mohamed opisał główne cele hodowli truskawki zmierzające do podniesienia wartości odżywczej i jakości owoców, podwyższenia odporności na czynniki klimatyczne oraz patogeny i szkodniki. Podkreślił, iż jakkolwiek hodowla truskawki oparta o metody tradycyjne pozwoliła na wyhodowanie wielu cennych odmian użytkowych to wykorzystanie metod biologii molekularnej i inżynierii genetycznej oraz oparcie hodowli o markery genetyczne (ang. Markers Assisted Selection) i wygenerowane przy ich pomocy mapy genetyczne zawierające loci genów

warunkujących cechy użytkowe, powinno pozwolić na szybszą i jeszcze efektywniejszą hodowlę nowych, ulepszonych odmian truskawki (*Fragaria x ananasa* Duch. X Rozier).

W ostatniej części tego rozdziału doktorant opisał cel przedstawionych w rozprawie badań. Było nim opracowanie szkieletu mapy genetycznej oktoploidalnej truskawki na podstawie analizy populacji mapującej uzyskanej z krzyżowania odmian Elsanta i Senga Sengana (E x SS). Opracowanie mapy genetycznej, stanowiącej podstawę do identyfikacji w obrębie genomu badanych odmian genów warunkujących ważne dla hodowców i konsumentów cechy użytkowe, powinno pozwolić na lepsze zrozumienie struktury i funkcji poszczególnych genów truskawki. Cel prowadzonych badań został dobrze opisany ale moim zdaniem powinien być zamieszczony w osobnym rozdziale zatytułowanym „Cel pracy” i umieszczonym po przeglądzie literatury.

Rozdział **Overview** jest starannie opracowany i zawiera opis systematycznej pozycji truskawki, opis metod hodowlanych wykorzystywanych przy tworzeniu nowych odmian metodami klasycznymi i opartymi o biologię molekularną. Doktorant opisał techniki wykorzystywane przy tworzeniu map genetycznych i fizycznych oraz techniki pozwalające na wykorzystanie mapowania populacyjnego do opisanie markerów molekularnych (RAPD, AFLP, SSR czy SNP) ważnych cech użytkowych. Rozdział ten kończy opis aktualnego stanu wiedzy na temat genomu truskawki. Dane na ten temat uzyskano na bazie analiz populacji, które wykorzystano do krzyżowania różnych od stosowanych przez doktoranta odmiany truskawki (np. *Fragaria vesca* f. *semperflorens* x *F. bucharica* 601; Redgauntlet x Hapil).

Wybór tematyki badawczej uważam za uzasadniony. Roślina będąca przedmiotem badań – truskawka, jest ważną, w szczególności w Polsce rośliną uprawną. Prace prowadzące do opracowania markerów molekularnych mogących służyć efektywnej hodowli truskawki o wysokiej wartości odżywczej i odpornej na czynniki abiotyczne i biotyczne trzeba uznać za ważne.

Nie mam uwag krytycznych do części rozprawy zatytułowanej **Materials and Methods**. Opisano w niej pochodzenie i warunki uprawy materiałów wykorzystanych do konstrukcji populacji mapującej oraz metody izolowania materiału genetycznego, oceny jego jakości, wybór markerów molekularnych stosowanych w badaniach, warunki prowadzenia reakcji PCR i wizualizacji produktów metodą elektroforezy poliakrylamidowej. W kolejnej części omówiono strategię mapowania zidentyfikowanych genów; opisano także metody i programy wykorzystane do analizy bioinformatycznej i konstrukcji mapy genetycznej truskawki.

Część metodyczna rozprawy pokazuje, iż doktorant opanował i z powodzeniem wykorzystał w swoich badaniach techniki pozwalające na generowanie markerów molekularnych ocenę ich wartości, sporządzanie map genetycznych i integracja uzyskanych wyników.

Rozdział **Results** zawiera przejrzysty opis uzyskanych wyników. Opisano wyniki analizy polimorfizmu markerów SSR pomiędzy formami rodzicielskimi oraz potomstwem otrzymanym w wyniku ich krzyżowania (czyli w tak zwanej populacji mapującej) oraz analizę częstości rekombinacji w 30 wyodrębnionych grupach sprzężeń (ang. linkage group, LG). Zidentyfikowane grupy sprzężeń zawierały różne liczby genów; najdłuższa LG miała długość 72,6 cM i zawierała

17 loci, dwie najkrótsze zawierały tylko po dwa loci. Średnia liczba loci w wyróżnionych LG wynosiła 3,9.

W ostatniej części tego rozdziału doktorant opisał homologię pomiędzy uzyskaną ramach niniejszej rozprawy populacją: E x SS a populacjami referencyjnymi: FV x FB/RG x H (B). Wyniki analizy porównawczej siedmiu grup sprzężeń otrzymanych dla populacji E x SS z grupami sprzężeń opisanymi dla populacji FV x FB (populacja diploidalna) i populacji RG x H (B) (oktoploidalnej) opisano i przedstawiono na siedmiu rycinach. W zakończeniu tego rozdziału doktorant przeanalizował wyniki swoich badań i sformował tezę mówiącą, iż zastosowane markery, pochodzące z baz danych rodzaju *Fragaria*, są przydatne w generowaniu mapy genetycznej E x SS i wykazują wysoki stopień konserwatywności w stosunku do mapy referencyjnej FV x FB.

Uważam, iż także rozdział **Discussion** jest dobrze i jasno napisany. W pierwszej jej części doktorant opisał parametry, które powinny cechować dobrą, przydatną do mapowania genetycznego populację mapującą: odpowiednia heterozygotyczność i liczebność. Stwierdził, iż przeprowadzone w ramach rozprawy badania potwierdziły wysoką heterozygotyczność wybranych odmian truskawki stanowiących formy rodzicielskie badanej populacji mapującej; 93% amplikonów wygenerowanych ze 125 markerami SSR było polimorficznych: 44% charakterystycznych dla odmiany Elsanta a 49% charakterystycznych dla odmiany Senga Sengana; tylko 25 amplikonów było wspólnych dla obu form rodzicielskich. Także wielkość otrzymanej przez doktoranta populacji była odpowiednia do mapowania (104 pojedynki).

W kolejnym podrozdziale doktorant przedyskutował przydatność różnych markerów molekularnych w tworzeniu map genetycznych. Wykazał, iż zastosowane przez Niego, opisane w literaturze przedmiotu markery SSR są wysoce przydatne i informatywne. Wykorzystanie 125 markerów SSR pozwoliło na wygenerowanie mapy genetycznej truskawki o łącznej długości 1450 cM ze średnią odległością między loci wynoszącą około 8,5 cM. Cztery z opisanych wcześniej markerów SSR zostały po raz pierwszy zmapowane w obrębie grup sprzężeń wyodrębnionych w genomie truskawki.

W dalszej części tego rozdziału doktorant opisał i przedyskutował w świetle dostępnej literatury organizację genomu badanych form truskawki i porównał ją z organizacją genomu innych zmapowanych form; ocenił stopień kolinearności i rearanżacje w obrębie mapowanego genomu i genomów referencyjnych. Na podstawie przeprowadzonej przez doktoranta analizy wyników można stwierdzić, iż zidentyfikowane przez Niego markery molekularne pozwalają na wykrycie homologii w obrębie badanego genomu i genomów opisanych wcześniej. Z dyskusji wynika, iż doktorant ma świadomość, iż opracowana przez Niego mapa genetyczna musi być ulepszana i powinna być wysycona nowymi markerami aby lepiej zrozumieć jej organizację.

Niewątpliwie osiągnięciem Pana Abdel-Rahman Moustafa Abdel-Wahab Mohameda i wypełnieniem celu prowadzonych badań jest stworzenie szkieletu mapy genetycznej truskawki na bazie populacji mapującej Elsanta x Senga Sengana. Jest to szczególnie ważne ponieważ rośliny z tych dwóch odmian truskawki są wykorzystywane w programach hodowlanych prowadzonych w Pracowni Niekonwencjonalnych Metod Hodowli Zakładu Hodowli Roślin Sadowniczych.

Istotnym osiągnięciem doktoranta było zidentyfikowanie podobieństw i różnic w lokalizacji poszczególnych markerów w obrębie grup sprzężeń na porównywalnych mapach genetycznych, skonstruowanej w ramach niniejszego doktoratu i skonstruowanej przez innych autorów na podstawie populacji mapującej FV x FB.

Oceniana rozprawa dobrze dokumentuje opanowany przez Pana Abdel-Rahman Moustafa Abdel-Wahab Mohameda warsztat naukowy, który umożliwi obecnie i w przyszłości prowadzenie ważnych, poznawczych i aplikacyjnych badań związanych z zastosowaniem markerów molekularnych w hodowli ulepszonych genetycznie roślin użytkowych.

Uważam, że przedstawiona rozprawa zawiera ciekawe wyniki, wnoszące nowe informacje na temat budowy genomu oktoploidalnej truskawki. Uzyskane wyniki powinny pozwolić hodowcom truskawki na efektywne wykorzystanie potencjału nowoczesnych metod molekularnych w hodowli truskawki o podwyższonej jakości i wysokiej odporności na niekorzystne czynniki klimatyczne oraz patogeny i szkodniki. Uzyskane wyniki zostaną zapewne wkrótce opublikowane w postaci artykułu w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

### **Wnioski końcowe**

*W świetle przedstawionej powyżej, pozytywnej oceny rozprawy doktorskiej Pana Abdel-Rahman Moustafa Abdel-Wahab Mohameda wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach o dopuszczenie Go do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na duży wkład pracy doktoranta i bardzo starannie przygotowaną rozprawę doktorską wnioskuję do Rady Naukowej o wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą.*

