

Dr hab. Lidia Skuza, prof. US
Katedra Biologii Molekularnej i Cytologii
Instytut Badań nad Bioróżnorodnością
Wydział Biologii
Uniwersytet Szczeciński
Ul. Wąska 13
71-415 Szczecin

Szczecin, 23.08.2019 r.

Recenzja

pracy doktorskiej pt. „Analiza polimorfizmu genów *Glu* i *Pin* w pszenicy zwyczajnej oraz ich wpływ na jakość ziarna i właściwości glutenu” wykonanej przez mgr inż. Aleksandrę Nucię w Instytucie Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, pod kierunkiem dr hab. Marty Tomczyńskiej-Mleko oraz promotor pomocniczej dr hab. Sylwii Okoń

Ocena problematyki badawczej

Pszenica zwyczajna (*Triticum aestivum* L.) należy do najważniejszych zbóż uprawianych na świecie. Ponad 50% produkcji ziarna pszenicy wykorzystuje przemysł spożywczy, przede wszystkim w celu wytworzenia mąki i produkcji pieczywa. Ziarno powinno się zatem odznaczać określoną jakością w zależności od przeznaczenia.

Jakość ziarna pszenicy zależy od kilku cech, wśród których najważniejsza jest twardość ziarna, zawartość białka i skład podjednostek gluteninowych o dużej masie cząsteczkowej (HMW). Cechy te są determinowane m.in. przez uwarunkowania genetyczne, warunki glebowo-klimatyczne oraz zabiegi agrotechniczne. Cechy te są również wykorzystywane jako znaczniki biologiczne w pracach hodowlanych. Ułatwiają one hodowcom wybór pożądanych genotypów z rozszczepiających się potomstw badanych kombinacji krzyżowań.

U alloheksaploidów jak pszenica *locus* twardości znajduje się tylko w jednym z genomów diploidalnych, tak więc ta cecha powinna być kontrolowana w procesie hodowlanym w sposób prosty. Jednak zmienność obserwowana w twardości ziarna wskazuje na wpływ innych genów na tą cechę. Pomimo znaczącego wzrostu w ciągu ostatnich kilkunastu lat stanu wiedzy na temat białek puroindolinowych, niektóre aspekty związane z ich funkcją wciąż wymagają wyjaśnienia.

Z kolei o jakości glutenu, a tym samym o cechach reologicznych formowanego z mąki ciasta, tj. lepkości, sprężystości, wytrzymałości, rozciągliwości itd., w znacznej mierze decydują wysokocząsteczkowe podjednostki gluteninowe (HMW-GS). Z uwagi na liczebność

alleli kodujących HMW-GS w trzech genomach homeologicznych pszenicy zwyczajnej (A, B, D) obserwuje się ich dużą zmienność genetyczną. Istotne są tutaj obecność poszczególnych podjednostek oraz proporcje między nimi. Dzięki prostemu dziedziczeniu mendlowskiemu genów kodujących podjednostki HMW możliwe jest stwierdzenie, jaki genotyp wypiekowy będzie obecny w następnym pokoleniu. Ułatwia to badanie gatunków mieszańcowych w celu wyselekcjonowania nowych genotypów charakteryzujących się dobrą jakością wypiekową i korzystnymi wartościami parametrów technologicznych.

Gluten jest również wykorzystywany w przemyśle do otrzymywania innowacyjnych produktów o unikalnych właściwościach reologicznych i powierzchniowych, które mogą być modyfikowane przez zastosowanie zimnej plazmy. Połączenie analiz molekularnych i fizykochemicznych może przyczynić się do pozyskania glutenu o korzystniejszych właściwościach.

Wobec powyższego uważam, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska Pani mgr inż. Aleksandry Nuci, dotycząca wpływu genów *Glu* i *Pin* w pszenicy zwyczajnej na jakość ziarna i właściwości glutenu, podejmuje ważną poznawczo oraz aplikacyjnie problematykę badawczą.

Formalna analiza pracy

Dysertacja liczy 109 stron i została podzielona na typowe dla pracy doktorskiej rozdziały: Wstęp, Przegląd literatury, Cel pracy, Materiał i metody badań, Wyniki, Dyskusja, Wnioski i Literatura. Rozdziały są podzielone na podrozdziały. Do pracy dołączono również spis tabel, rysunków i fotografii oraz streszczenia w języku polskim i angielskim.

W tekście pracy zamieszczono 11 rysunków, 29 tabel, 19 fotografii oraz cytowania 225 pozycji literaturowych. Spośród cytowanej literatury ponad 43% stanowią publikacje pochodzące z ostatniej dekady.

Praca została napisana poprawnym stylem i językiem, a treści przedstawiane w kolejnych rozdziałach i podrozdziałach są spójne i stanowią logiczną całość.

Merytoryczna ocena pracy

Pierwszy rozdział to jednostronicowy „Wstęp”, w którym Autorka nawiązała do przeprowadzonych badań.

W rozdziale drugim („Przegląd literatury”), liczącym 22 strony, Autorka przedstawia problematykę badawczą. Doktorantka charakteryzuje pszenicę zwyczajną pod kątem wykorzystania w celach konsumpcyjnych, następnie charakteryzuje badania jakości ziarna,

skupiając się na jego twardości, determinowanej w dużym stopniu przez czynniki genetyczne. W kolejnej części tego rozdziału Autorka charakteryzuje funkcje i budowę glutenu, a także geny kodujące białka glutenowe oraz podaje krótką charakterystykę glutenu jako biopolimeru. Ten rozdział zawiera także bardzo obszerne dane dotyczące właściwości reologicznych i powierzchniowych metod ich badania. Kończy go charakterystyka plazmy i jej wykorzystanie w wielu gałęziach przemysłu.

Rozdział ten postrzegam jako dobrze napisany. Informacje zawarte w kolejno przedstawianych akapitach całkowicie wystarczają do śledzenia wyników pracy, ich interpretacji i wyciągania wniosków.

W mojej opinii korzystny byłby podział omawianej literatury na część zawierającą opis analiz molekularnych i część zawierającą opis analiz fizykochemicznych, odzwierciedlając tym samym kolejność wykonywanych badań.

„Cel pracy” - określenie sposobu wpływu genów *Glu* i *Pin* na jakość ziarna i właściwości glutenu pszenicy zwyczajnej - został jasno przedstawiony i właściwie sformułowany. W ramach realizacji celu zaplanowano określone zadania badawcze. Celem dodatkowym było wykorzystanie wyselekcjonowanych odmian pszenicy zwyczajnej do modyfikacji właściwości powierzchniowych glutenu.

Rozdział „Materiał i metody” przedstawiony został przez Doktorantkę na 14 stronach i zawiera wszystkie informacje niezbędne do ewentualnego powtórzenia przedstawionych w pracy doświadczeń. Dobór technik badawczych jest odpowiedni, a eksperymenty zostały poprawnie zaplanowane i przeprowadzone.

Materiał do badań, stanowiący 81 odmian jarej pszenicy zwyczajnej, pozyskano od hodowców z ośmiu krajów środkowej i północnej Europy oraz Europy zachodniej (tą informację należałoby umieścić w tej części opisu). Autorka nie wyjaśnia systemu doboru materiału badawczego, jednak ze względu na zróżnicowane warunki środowiskowe, jest on odpowiedni.

Do analiz fizykochemicznych i biometrycznych wybrano odmiany charakteryzujące się najbardziej zróżnicowaną zawartością wysokocząsteczkowych podjednostek gluteninowych – HMW-GS (8 odmian).

Na jakość ziarna pszenicy, przy stosowaniu prawidłowej agrotechniki, ma wpływ zarówno czynnik genetyczny, jak i przebieg warunków pogodowych. Z tego względu wskazane byłoby

podanie w tabeli 2 terminu zbioru materiału do badań (rok zbioru). W tym miejscu można także umieścić inne dane dotyczące badanych odmian, jeśli takie istnieją.

Na uwagę zasługuje szerokie spektrum analiz fizykochemicznych przeprowadzone przez Autorkę, pozwalające na szczegółowe opracowanie wyników.

„Wyniki badań” Autorka przedstawiła na 28 stronach pracy, zgodnie z kolejnością wykonywanych analiz. Rozdział ten jest bogato udokumentowany.

Doktorantka zidentyfikowała 25 kombinacji podjednostek HMW glutenin, warunkujących wyższą elastyczność glutenu oraz 4 układy alleliczne genów *Pin*. W niektórych odmianach zauważono istotny wpływ podjednostek HMW glutenin na zmiany właściwości reologicznych. Ważnym wynikiem jest również stwierdzenie zmian we właściwościach powierzchniowych glutenu osadzanego na powierzchni szkła aktywowanego zimną plazmą.

Na etapie prezentowania wyników w części molekularnej znacznie ułatwiłoby interpretację załączonych zdjęć produktów PCR podanie długości 1-2 produktów w ścieżce markerowej. Zdjęcia nie są także zgodne z załączonym opisem wyników, np. odnosząc się do analizy wyników elektroforezy przedstawionych na fotografii 1 Autorka pisze „Para starterów G1 pozwoliła na zidentyfikowanie podjednostki Axnull w 17 odmianach, inicjując amplifikację fragmentu wielkości 920 pz.”, natomiast na zdjęciu widocznych jest 10 produktów.

Rozdział kończy tabela z zestawieniem wyników analiz molekularnych, właściwości reologicznych i podstawowych właściwości fizykochemicznych. Jest to ciekawe połączenie wybranych wyników badań, które wymaga moim zdaniem choć krótkiego opisu.

Licząca 12 stron „Dyskusja” została podzielona na podrozdziały zgodnie z etapami pracy. Autorka wykazała się dobrą znajomością omawianych w pracy problemów i umiejętnością porównania ich z badaniami innych autorów. Pozycje piśmiennictwa są trafnie dobrane i cytowane.

„Wnioski” zostały sformułowane w dziewięciu punktach. Są rzeczowe i wynikają z przeprowadzonych badań.

Proponuję dodanie wniosku wynikającego z przeprowadzonych badań w odniesieniu do selekcji w hodowli jakościowej pszenicy zwyczajnej.

W obszernym tekście pracy występuje tylko kilka drobnych błędów edytorskich i stylistycznych. Świadczy to dodatkowo o bardzo dokładnym przygotowaniu manuskryptu.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do recenzji praca jest interesująca, a problem badawczy został rozwiązany w wyniku przeprowadzonych badań. Osiągnięcia zostały porównane i przedyskutowane z danymi literaturowymi. Moje uwagi – w większości redakcyjne – nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

Podsumowując ocenę stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr inż. Aleksandry Nuci spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Wydziału Agrobioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Aleksandry Nuci do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Joana Skone