

Prof. dr hab. Daniela Gruszecka
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
pracownik emerytowany

RECENZJA

**osiągnięcia naukowego pt. „Analiza zróżnicowania genetycznego sekwencji
powtarzalnych żyta i możliwości jej wykorzystania w ustalaniu tożsamości odmian i
hodowli tego zboża” i dorobku naukowego, dydaktycznego a także organizacyjnego
dr Magdaleny Achrem w związku z postępowaniem o nadanie Jej stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauki rolniczej, dyscyplinie agronomii**

Ocena została opracowana na podstawie decyzji Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów, o powołaniu mojej osoby w dniu 2 września 2019 r. na recenzenta w postępowaniu o nadanie dr Magdalenie Achrem stopnia doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie agronomii oraz na zlecenie Dziekana Wydziału Agrobiotechnologii UP w Lublinie – pismo z dnia 17 września 2019 r.

Jednocześnie oświadczam, że nie posiadam wspólnego dorobku publikacyjnego jak i prac badawczych z dr Magdaleną Achrem oraz, że nie byłam recenzentem wydawniczym prac, których autorem była Kandydatka.

Ocena została opracowana na podstawie dokumentacji przygotowanej przez Habilitantkę obejmującej:

1. Wniosek do Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów z dnia 18.04.2019 o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie agronomii
2. Odpis dyplomu stwierdzającego posiadanie tytułu doktora nauk biologicznych
3. Autoreferat w języku polskim i angielskim
4. Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki
5. Kopie prac naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe
6. Oświadczenia współautorów
7. Prace wskazane jako szczególne osiągnięcie naukowe
8. Informację o przebiegu poprzedniego postępowania habilitacyjnego
9. Kwestionariusz osobowy, dane adresowe

Informacje ogólne o Habilitantce

Dr Magdalena Achrem urodziła się 28 listopada 1974 roku w Trzebiatowie. Studia wyższe magisterskie ukończyła w 1998 r. na Uniwersytecie Szczecińskim w Szczecinie, Wydział Nauk Przyrodniczych, kierunek Biologia i Ochrona Środowiska, specjalność – Diagnostyka laboratoryjna. Pracę magisterską pt. „Charakterystyka molekularna gatunków bliźniaczych *Pellia endiviifolia* z obszaru Polski”, wykonała pod kierunkiem prof. dr. hab. Romana Zielińskiego. Stopień doktora nauk biologicznych w specjalności biologia uzyskała z wyróżnieniem w 2006 r. na rodzimym Uniwersytecie na Wydziale Nauk Przyrodniczych (obecnie Wydział Biologii). Podstawą była rozprawa doktorska: „Studia kariologiczne rodzaju *Secale*”, wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Stanisławy Rogalskiej.

Dr M. Achrem pracę zawodową rozpoczęła w 1998 r. bezpośrednio po ukończeniu studiów w Katedrze Biologii Komórki (obecnie Katedra Biologii Molekularnej i Cytologii) rodzimego Wydziału i Uczelni jako asystent, a od roku 2006 jest adiunktem.

Ocena osiągnięcia naukowego

Zgodnie z wymogami formalnymi, dr Magdalena Achrem wskazała jako osiągnięcie naukowe monotematyczny cykl pięciu oryginalnych prac twórczych, indeksowanych w bazie Journal Citation Reports pod wspólnym tytułem „Analiza zróżnicowania genetycznego sekwencji powtarzalnych żyta i możliwości jej wykorzystania w ustalaniu tożsamości odmian i hodowli tego zboża”. W skład ww. osiągnięcia wchodzi następujące publikacje:

1. MAGDALENA ACHREM, ANNA KALINKA, STANISŁAWA ROGALSKA. 2014. Assessment of genetic relationships among *Secale* taxa by using ISSR and IRAP markers and the chromosomal distribution of the AAC microsatellite sequence. Turkish Journal of Botany, 38(2):213-225. DOI:10.3906/bot-1207-26.
IF_{2014/2015} 1,178 lista MNiSW: 10 pkt
2. MAGDALENA ACHREM, ANNA KALINKA, STANISŁAWA ROGALSKA. 2010. Possible ancient origin of heterochromatic JNK sequences in chromosomes 2R of *Secale vavilovii* Grossh. Journal of Applied Genetic, 51 (1):1-8. DOI: 10.1007/BF03195704.
IF₂₀₁₀ 1,482 lista MNiSW: 20 pkt
3. ANNA KALINKA, MAGDALENA ACHREM. 2015. Analysis of the flanking sequences of the heterochromatic JNK region in *Secale vavilovii* Grossh. Chromosomes. Biologia Plantarum, 59 (4):637-644. DOI: 10.1007/s10535-015-0531-0.
IF₂₀₁₅ 1,665 lista MNiSW: 25 pkt

4. MAGDALENA ACHREM, ANNA KALINKA. 2017. Tracking of intercalary DNA sequences integrated into tandem repeat arrays in *Secale vavilovii*. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 86(2):3548. DOI: 10.5586 /asbp.3548.
IF₂₀₁₇ 0,876 lista MNiSW: 25 pkt
5. ANNA KALINKA, MAGDALENA ACHREM, PAULINA POTER. 2017. The DNA methylation level against the background of the genome size and t-heterochromatin content in some species of the genus *Secale* L. PeerJ, 5:e2889. DOI: 10.7717/peerj.2889.
IF₂₀₁₇ 2,118 lista MNiSW: 35 pkt

Prace naukowe wchodzące w skład osiągnięcia opublikowano w latach 2010-2017, sumaryczny IF zgodnie z rokiem wydania wynosi 7,319, natomiast sumaryczna liczba punktów MNiSW 115. We wszystkich wymienionych publikacjach Habilitantka jest autorem korespondencyjnym, przy czym w trzech przypadkach jednocześnie pierwszym autorem a w dwóch drugim. Przytoczone fakty wskazują jednoznacznie na wiodącą rolę dr Achrem w powstaniu koncepcji badawczej, realizacji części eksperymentalnej i opracowaniu manuskryptów. W mojej opinii są to wysokie wskaźniki bibliometryczne, formalnie wystarczające do uznania tych publikacji jako istotne osiągnięcie naukowe w prezentowanej przez Kandydatkę dyscyplinie naukowej (nauki rolnicze – agronomia).

Oceniając merytoryczną wartość publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe wyrażam pogląd, że są one powiązane tematycznie, podjęta problematyka jest bardzo aktualna a zastosowane metody badawcze nowoczesne. Uzasadniając przedstawioną opinię stwierdzam, że obiekt badań jakim jest żyto (*Secale sp.*) wybrano właściwie, bowiem jest ono ważnym gospodarczo zbożem, powszechnie uprawianym w Europie Wschodniej i Północnej, a w Polsce w szczególności. Gatunek ten cechuje się wieloma korzystnymi cechami jak: wysoką odpornością na stesy biotyczne i abiotyczne; mrozoodpornością, tolerancją na suszę a tym samym zdolnością do wzrostu na słabych glebach z efektywnym wykorzystaniem składników pokarmowych z podłoża, wysoką zawartością błonnika pokarmowego, stosunkowo dużą odpornością na choroby i szkodniki. Obserwowany w ostatnich latach spadek powierzchni jego uprawy spowodowany jest wypieraniem tego gatunku z gleb żytnych przez pszenżyto a także zmniejszeniem postępu w jego hodowli w porównaniu z innymi zbożami, poprzez silną presję selekcyjną stosowaną w hodowli roślin. Jednym ze sposobów zwiększania różnicowania genetycznego rodzaju i poprawy cech funkcjonalnych odmian jest krzyżowanie oddalone z dzikimi gatunkami jako donorów genów, warunkujących cenne, z agronomicznego punktu widzenia, cechy.

Ogólnie, skuteczność krzyżowania i jednocześnie pozyskiwania ziarniaków z mieszańców oddalonych między odmianami i gatunkami dzikimi jest bardzo niska. Odpowiedni dobór materiału do krzyżowań oddalonych może mieć decydujące znaczenie dla powodzenia programów hodowlanych. Habilitantka w badaniach wykorzystwała siedem taksonów żyta: *Secale cereale* L. cv. Dańkowskie Zielonkawe, *Secale cereale* ssp. *afghanicum* Vavilov, *Secale cereale* ssp. *segetale* Zhuk., *Secale sylvestre* Host., *Secale strictum* ssp. *strictum* Presl., *Secale strictum* ssp. *africanum* Stapf, *Secale strictum* ssp. *kuprijanovii* Grossh. oraz linie *Secale vavilovii* Grossh. 225 ż.cz., 116 i 121.

W materiale badawczym oznaczono współczynnik PIC (zawartość informacji polimorficznej - Polymorphic Information Content), indeks efektywności metody (EMR), indeks zróżnicowania (DI) oraz indeks systemu markerowego (MI) jako iloczyn EMR i DI. Wysokie wartości w/w współczynników potwierdziły, że markery ISSR (ang. Inter Simple Sequence Repeat) i IRAP (ang. Inter Retrotransposons Amplified Polymorphism) są użyteczne w ocenie zróżnicowania międzygatunkowego w rodzaju *Secale*, także zróżnicowania poniżej szczebla gatunku co potwierdziło występowanie dużego podobieństwa między gatunkami żyta. Dzikie gatunki to formy jednoroczne oraz wieloletnie, a także samo- i obcopolne. Rozróżnienie taksonów żyta jest trudne ze względu na brak barier krzyżowalności oraz znaczących różnic między nimi. Wyjątkiem jest gatunek *S. sylvestre*, którego krzyżowanie z innymi gatunkami rzadko kiedy pozwala uzyskać płodne potomstwo.

Markery ISSR i IRAP zastosowane w badaniach pozwoliły na określenie odpowiednio polimorfizmu sekwencji międzymikrosatelitarnych oraz polimorfizmu sekwencji znajdujących się między retrotranspozonami a za pomocą metody hybrydyzacji *in situ*, zbadano też rozmieszczenie motywu mikrosatelitarnego AAC w chromosomach żyta. Uzyskane wyniki (analiza UPGMA oraz współczynnik podobieństwa Dice'a) dla obydwu markerów (ISSR i IRAP) dowiodły, że wśród badanych taksonów żyta najbardziej podobne okazały się gatunki *S. cereale* i *S. vavilovii* 225 żcz. a najmniej *S. strictum* ssp. *strictum* oraz *S. sylvestre*. Na podstawie dendrogramu wyróżniono trzy grupy podobieństwa, co pozwoliło określić, między którymi z badanych form istnieje silna zależność filogenetyczna a tym samym wysoka skuteczność krzyżowania i tworzenia materiału wyjściowego nowych odmian hodowlanych o pożądanym cechach.

Analiza sekwencji powtarzalnych jest niezbędna dla zrozumienia organizacji i funkcjonowania genomów zbóż (u żyta stanowią one 90% genomu). Ważną część stanowią retrotranspozony – źródło zmienności dla regulacji allelicznych odpowiedzi genów na stres abiotyczny. Za właściwe uważam więc prowadzenie przez Habilitantkę badań z udziałem

różnych gatunków rodzaju *Secale*, co umożliwiło ukazanie wpływu niekodujących sekwencji powtarzalnych na płodność i żywotność roślin np. *S. vavilovii*, gdzie nie stwierdzono porażenia przez czynniki chorobotwórcze lub szkodniki. Obserwacje cytogenetyczne u tych roślin wykazały obecność dodatkowego prążka heterochromatynowego na długim ramieniu jednego lub dwóch chromosomów pary 2R. Wykazano, że dodatkową heterochromatynę stanowią sekwencje rodziny *JNK*. Region *JNK* składa się z wysoce zmetylowanych, tandemowych powtórzeń o długości 1200 pz. Są one powtórzone 4000 razy w tym miejscu. W roślinach bez dodatkowego prążka w chromosomach 2R, sekwencja *JNK* jest rozproszona w całym genomie, gdzie występuje w 20-krotnych powtórzeniach.

Poznawczo, ale również ze względów aplikacyjnych, interesującym jest fakt, że taki dodatkowy prążek obserwowano także w *S. cereale* a rośliny nie wykazały żadnych zaburzeń w koniugacji chromosomów. Okazało się też, że trudno uzyskać ziarniaki z roślin, które miały dodatkowy prążek heterochromatynowy na obu chromosomach 2R. Ponadto, rośliny te były słabe, pozbawione wigoru, o silnie zredukowanej płodności i najczęściej szybko zamierały. Obserwowane zmiany w niektórych roślinach *S. vavilovii*, związane z sekwencją *JNK*, której występowanie wiązało się z obniżeniem płodności, skłoniło Habilitantkę do bardziej szczegółowych badań genomu, w celu wyjaśnienia przyczyny tych zmian.

Oprócz występowania dodatkowego prążka heterochromatynowego, cechą charakterystyczną analizowanych linii *S. vavilovii*, była niska zawartość pentozanów oraz mozaikowe zabarwienie pylników i ziarniaków. Ze względu na fakt, iż występowanie mozaikowego fenotypu może być spowodowane działalnością genetycznych elementów ruchomych, przeprowadzono hybrydyzację *in situ* z sondą zaprojektowaną do sekwencji genu transpozazy transpozonów systemu *Ac* kukurydzy. Nie wykazano jednak sygnału hybrydyzacyjnego w regionie *JNK*. Następnie, by stwierdzić obecność sekwencji retrotranspozonowych w dodatkowym prążku heterochromatynowym przeprowadzono lokalizację retrotranspozonów z grupy *Ty1-copia* i *Ty3-gypsy* w chromosomach linii *S. vavilovii*. Używając jako sondy molekularnej, sekwencji odpowiadającej *RT* (*Reverse Transcriptase*) retrotranspozonów z rodzin *Ty1-copia* i *Ty3-gypsy*, z wykorzystaniem metody FISH, uzyskano jedynie oczekiwane charakterystyczne rozmieszczenie tych retrotranspozonów wzdłuż wszystkich chromosomów, z pominięciem dodatkowego prążka. Nie świadczy to o braku elementów ruchomych w tym miejscu, ponieważ mogą występować formy pozbawione obszaru kodującego odwrotną transkryptazę czy transpozazę. W celu poznania pochodzenia heterochromatynowej sekwencji *JNK*, przeprowadzono analizę za pomocą algorytmu BLAST. Stwierdzono duże podobieństwo sekwencji *JNK* do sekwencji 5S

rDNA 17 gatunków rodzaju *Hordeum*. Za pomocą analizy FISH z sondą molekularną zaprojektowaną do sekwencji genu 5S rRNA *S. cereale*, zlokalizowano większe sygnały hybrydyzacyjne w chromosomach 1RS oraz 5RS i mniejszy sygnał w obszarze dodatkowego prążka na chromosomie 2RL. Geny 5S rRNA mogą być przenoszone w genomie, czego skutkiem może być powstawanie pseudogenów, chociaż sam mechanizm rozprzestrzeniania się tych genów wciąż nie jest do końca wyjaśniony. Pseudogeny są konsekwencją duplikacji genów, które mogą powstawać przez przeniesienie lub poprzez powielanie genomowego DNA a większość z nich powstaje w wyniku utraty części sekwencji kodującej. Oznacza to, że zidentyfikowany w badaniach obszar nietypowego prążka heterochromatynowego może stanowić również zespół wadliwych genów oraz zmodyfikowanych fragmentów, które gromadzone są w określonym miejscu w chromosomie 2RL.

Habilitantka, w celu wyjaśnienia przyczyny wspomnianej obniżonej żywotności roślin słusznie podjęła badania, dotyczące poznania obszarów flankujących sekwencję *JNK*. W tym celu wykorzystwała szybszą i bardziej wydajną od klasycznej (przeszukiwania bibliotek za pomocą sond) metodę opartą na PCR (technika genome walking). Ponadto, by potwierdzić występowanie flankujących sekwencji przy dodatkowym prążku heterochromatynowym, zastosowała metodę fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ*. Zidentyfikowana tą metodą sekwencja wykazywała najwyższy stopień podobieństwa (około 90%) do dwóch klonów sekwencji powtórzonej *R173-2* oraz *R-173-3*, która jest charakterystyczna dla rodzaju *Secale*. Analiza FISH wykazała, że w liniach *S. vavilovii* te dwie sekwencje występują tylko w tym miejscu w chromosomie, gdzie zlokalizowano nietypową heterochromatynę. Sąsiadująca sekwencja *JNK*, która nie koduje żadnego poznanego jak dotąd białka, nie powodowałaby zmian w żywotności roślin. Obszar ten bezpośrednio graniczy z niekodującą sekwencją powtarzalną i znajduje się po obu jej stronach, przez co istnieje możliwość, że pełni funkcję izolatora, który zapobiega rozprzestrzenianiu się heterochromatyny na przyległe geny. Takie bariery oddzielające heterochromatynę od obszarów euchromatynowych występują powszechnie zarówno w świecie roślinnym, jak i zwierzęcym. Można też przyjąć, że to sekwencja *JNK* pełni taką funkcję wobec sekwencji *R173*. Sekwencja *JNK* może przylegać także do innej, ale tylko wówczas, kiedy wstępuje poza głównym *locus* w chromosomie 2RL. Zatem istnieje możliwość, że te inne *loci JNK* pojawiają się w wyniku działania genetycznego elementu ruchomego. Przytoczone wyniki wskazują, że sekwencja *JNK* lub jej fragment może być przenoszona w procesie retrotranspozycji. Obecność sekwencji *JNK*, wykazujących duże podobieństwo do sekwencji 5S rRNA, może świadczyć o intensywnej dynamice tych powtarzających się elementów w genomie żyta.

W oparciu o powyższe wyniki badań, Habilitantka przeanalizowała bardziej szczegółowo strukturę dodatkowego prążka heterochromatynowego. Podczas analizy sekwencji flankujących, oprócz produktów oczekiwanej długości, które stanowiły sąsiadujące sekwencje *JNK*, zamplifikowano sekwencje o innych długościach, które znajdują się pomiędzy sekwencjami z rodziny *JNK*. Omówione wyniki wskazały na niejednorodność struktury badanego regionu i podobieństwo do sekwencji charakterystycznych dla licznych i bardzo oddalonych ewolucyjnie organizmów, przy czym nie wykazały związku pomiędzy obniżeniem wigoru a zmianami w genomie *S. vavilovii*, ale pozwoliły poznać strukturę sekwencji powtarzalnych bloku *JNK*. Wskazały na niezwykle złożoność tego regionu heterochromatyny oraz przybliżyły mechanizm, którym można tłumaczyć w jaki sposób pomiędzy blokami sekwencji powtarzalnych z rodziny *JNK* zostały wstawione obce sekwencje. Zasadne zatem było postawienie hipotezy, że stanowią one fragmenty różnych genów lub pseudogeny. Aktywne pseudogeny mogą oddziaływać regulacyjnie na aktywność genów poprzez ncRNA. Sekwencje bogate w geny RNA pełnią znaczącą rolę w epigenetycznej regulacji ekspresji genów. Wyniki badań pozwalają na poznanie i zrozumienie mechanizmów kontroli genomu oraz ekspresji fenotypowej, co może mieć znaczenie w nowoczesnej hodowli roślin.

Genomy roślin zawierają podstawową informację genetyczną, która określa właściwości i zachowanie biologiczne gatunku a zatem muszą być względnie stabilne. Pod wpływem stresu środowiskowego mechanizmy epigenetyczne, m.in. metylacja DNA, mogą szybko i odwracalnie modyfikować epigenom indukując zmiany transkrypcji genów, które wpływają na pojawienie się nowych cech adaptacyjnych. Umożliwiają także długoterminowe zmiany w ekspresji genów. Regulacje epigenetyczne są zaangażowane w ekspresję wielu genów o znaczeniu rolniczym, biorących również udział w procesach adaptacyjnych.

Celem kolejnych badań Habilitantki było ukazanie poziomu metylacji cytozyny w 8 taksonach żyta w powiązaniu z wielkością genomu i zawartością heterochromatyny telomerycznej. Analizowano wyniki globalnej (ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) i genomowej (MSAP - Methyl-Sensitive Amplification Polymorphism) metylacji cytozyny w DNA wraz z danymi dotyczącymi wielkości ich genomu oraz zawartości telomerycznej heterochromatyny. Technika ELISA pozwoliła na poznanie globalnej metylacji badanych gatunków, która może odzwierciedlać funkcjonalne zmiany w genomie takie jak: mutacje, stabilność genomową, zmiany ekspresji genów czy rearanżacje chromosomowe. Wyrażam pogląd, że przeprowadzone badania miały charakter nowatorski a uzyskane wyniki wnoszą nową wiedzę do badań nad żytem.

Pani Doktor, porównując analizy IRAP opartych na retrotranspozonach, z wynikami metylacji DNA stwierdziła, że najmniej podobnymi taksonami okazały się gatunki *S. strictum* ssp. *strictum* oraz *S. sylvestre*. Gatunek *S. sylvestre* jako najbardziej odmienny od pozostałych badanych taksonów pod względem epigenetycznym jest również filogenetycznie najstarszy wśród gatunków *Secale*. Różni się liczbą i rozmieszczeniem sekwencji powtarzalnych a ich amplifikacje i delecje stanowiły podstawę w szlaku ewolucyjnym w tym rodzaju.

Podsumowując ocenę cyklu 5 publikacji podzielam pogląd Habilitantki, że najważniejszymi osiągnięciami są:

1. Ocena wykorzystania różnych markerów DNA generowanych w reakcji PCR (w oparciu o sekwencje mikrosatelitarne i retrotranspozonowe) do określenia zależności i zróżnicowania genetycznego pomiędzy *S. cereale* i gatunkami dzikimi z uwzględnieniem *Secale vavilovii* z dodatkowym prążkiem *JNK*, dającą możliwość wykorzystania w programach hodowlanych.
2. Wykazanie wysokiego podobieństwa między żytem uprawnym a gatunkami dzikimi (0,37-0,85), co pozwala na oczekiwanie wysokiej skuteczności krzyżowania i formowania materiału wyjściowego dla nowych odmian o pożądanym cechach.
3. Analiza zróżnicowania genetycznego między liniami żyta, przy pomocy markerów ISSR i IRAP, co ukazuje jej potencjalną użyteczność w ustalaniu tożsamości odmian.
4. Kompleksowa analiza bloku sekwencji powtarzalnych *JNK*, występującego w niektórych roślinach *S. vavilovii*, którego występowanie związane jest z obniżeniem ich płodności i żywotności:
 - a. wykazanie podobieństwa sekwencji *JNK* do sekwencji 5S rDNA,
 - b. ukazanie niezwyklej złożoności regionu heterochromatyny *JNK*, niejednorodnej struktury i obecność obcych, bardzo różnorodnych sekwencji,
 - c. ukazanie, że sekwencje między *JNK* wykazały podobieństwo do genu 5-kinazy glutaminianu i domniemanej dehydrogenazy alkoholowej pierwotniaków z rodzaju *Leishmania*, do mRNA mitochondrialnego genu białka rybosomalnego S4 u roślin, do genu glikoproteiny (G) wirusa IHNV oraz do sekwencji powtarzalnej żyta i chromosomu 3B pszenicy,
 - d. wykazanie, że sekwencja *JNK* jest flankowana przez sekwencje powtarzalną R173, która jest charakterystyczna dla genomu żytniego. Obszar ten bezpośrednio graniczy z niekodującą sekwencją powtarzalną i znajduje się po obu stronach, przez co może

pełnić funkcję izolatora, uniemożliwiając rozprzestrzenianie się obszaru heterochromatynowego na przyległe obszary,

e. ustalenie, że obszar nietypowego prążka heterochromatynowego - blok *JNK*, może stanowić zespół wadliwych genów (pseudogenów) lub elementów ruchomych, które gromadzone są głównie w jednym miejscu w chromosomie 2RL. Jest to niezmiernie istotne, ponieważ aktywne pseudogeny mogą oddziaływać regulacyjnie na aktywność genów poprzez ncRNA.

5. Ukazanie wysokiego poziomu metylacji DNA w taksonach *Secale* przy zastosowaniu techniki MSAP, który wahał się od 60% w *S. strictum* ssp. *africanum* do 66% w *S. cereale* ssp. *segetale*. Ponadto, bardzo wysokiego poziomu globalnej metylacji (ELISA), który wynosił od 53% dla *S. strictum* do 83% dla *S. cereale* ssp. *segetale* i wykazał statystycznie istotne różnice między badanymi taksonami.
6. Potwierdzenie najmniejszego podobieństwa gatunku *S. sylvestre* pod względem genetycznym i epigenetycznym w porównaniu z innymi badanymi gatunkami z rodzaju *Secale*.
7. Stwierdzenie, że podczas ewolucji w rodzaju *Secale*, przy zwiększaniu rozmiarów genomu, szczególnie poprzez dodawanie sekwencji heterochromatynowych, nie musi dochodzić do zwiększenia poziomu metylacji DNA.

Wyniki badań, które zaplanowano i zrealizowano, przyczynią się do poszerzenia wiedzy o zróżnicowaniu genomów gatunków z rodzaju *Secale* w oparciu o sekwencje powtarzalne, które są przydatne w hodowli roślin. Podzielam zdanie Habilitantki, że sekwencje powtarzalne generują istotne różnice między genomami, które mogą ukazywać powiązania między gatunkami oraz być użyteczne w praktycznej hodowli żyta i ustalaniu tożsamości odmian. Porównanie natury i rozmieszczenia sekwencji powtarzalnych pomiędzy gatunkami mniej lub bardziej spokrewnionymi dostarcza wielu informacji o ich ewolucji i pozwala na skuteczne wykorzystanie w programach hodowlanych. Znajomość dystrybucji, genomowej organizacji, chromosomowej lokalizacji oraz pochodzenia ewolucyjnego sekwencji powtarzalnych jest niezbędna dla zrozumienia organizacji i funkcjonowania genomów zarówno roślinnych jak i zwierzęcych. Sekwencje powtarzalne podlegają szybkiej ewolucji wykazując dużą zmienność, wynikającą z ich amplifikacji, przemieszczania i mutacji. Pozwala to na ich wykorzystanie jako użytecznych markerów molekularnych. Jednakże, wszystkie te cechy sekwencji powtarzalnych powodują trudności w ich analizie oraz poznaniu ostatecznych mechanizmów wstawiania i zmiennej dystrybucji w genomie.

Reasumując podkreślam raz jeszcze, że badania na których skupiła się Habilitantka mają duże znaczenie poznawcze i również aplikacyjne. Wnoszą nową wiedzę do omawianego obszaru badań, co pozwala mi stwierdzić, że dr Magdalena Achrem spełnia w tym zakresie wymogi ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z 14 marca 2003 r. (Dz.U. Nr 65, poz. 595) z późniejszymi zmianami (Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455).

Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych i współpracy naukowej

Poza omówionym powyżej głównym nurtem badawczym, Habilitantka prowadziła a niektóre z nich prowadzi nadal, badania w różnych obszarach biologii molekularnej i cytogenetyki roślin i zwierząt.

Pierwsze prace w dorobku naukowym Habilitantki wiążą się z tematem badań, zapoczątkowanym pod kierownictwem Pani prof. dr hab. Stanisławy Rogalskiej i były realizowane przez kilka lat w Katedrze Biologii Komórki, Wydziału Nauk Przyrodniczych (obecnie Wydziału Biologii), Uniwersytetu Szczecińskiego. Prace te dotyczyły głównie analiz cytogenetycznych różnych gatunków z rodzaju *Secale*, a przede wszystkim linii *S. vavilovii*. Równocześnie poszerzała swoje umiejętności o nowe techniki badawcze, które wprowadziła w Katedrze Biologii Komórki m.in. technikę fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ*. Badała rozmieszczenie genetycznych elementów ruchomych w chromosomach żyta. Zainteresowania naukowe koncentrowały się na problematyce związanej z genomami roślin, zazwyczaj skupiały się wokół badań z zakresu biologii i cytogenetyki molekularnej zbóż. Jest to główny nurt tematyczny większości prac i realizowanych projektów. Jednocześnie rozwijała swoje zainteresowania dotyczące dynamicznych zmian, szczególnie sekwencji powtarzalnych, w genomach zbóż m.in. *X Triticosecale* Witt. Uczestniczyła w badaniach, które obejmowały analizę rearanzacji sekwencji nukleotydowych DNA w genomach mieszańców i ukazanie różnic w rozkładzie liczby chromosomów w badanych liniach oraz określanie lokalizacji retrotranspozonów w chromosomach. Część badań dotyczyła bezpośredniej eliminacji chromosomu/chromatyny z komórek macierzystych pyłku jako aspektu niestabilności, prowadzącej do nieregularnej mejozy i zaburzeń w procesie mejotycznym.

Wykorzystując umiejętność prowadzenia prac badawczych z wykorzystaniem analiz molekularnych, współpracowała z pracownikami innych jednostek naukowych Uniwersytetu Szczecińskiego (US).

Niezwykle istotny, zasługujący na szczególne podkreślenie, zasługuje fakt, że dr M. Achrem była kierownikiem trzech projektów badawczych (KBN - 2, Fundacja Rozwoju

Systemu Edukacji (FRSE) – 1) oraz dwukrotnie wykonawcą w projektach finansowanych przez KBN oraz Program Operacyjny Zrównoważonego Rozwoju Sektora Rybołówstwa i Nadbrzeżnych Obszarów Rybackich.

W ujęciu liczbowym dorobek publikacyjny Habilitantki (oprócz pięciu publikacji składających się na osiągnięcie naukowe) stanowi 10 publikacji indeksowanych w JCR (2 przed doktoratem i 8 po), 10 to publikacje nieindeksowane (większość anglojęzycznych) (3 przed doktoratem i 7 po), 7 prac w recenzowanych wydawnictwach pokonferencyjnych (po doktoracie) oraz 10 rozdziałów w monografiach (6 przed doktoratem, 4 po). Jest również autorką 3 rozdziałów w podręczniku oraz dwóch rozdziałów skryptu (po doktoracie). Wyniki badań prezentowała na 17 konferencjach krajowych (10 przed doktoratem, 7 po) oraz 7 międzynarodowych (3 przed doktoratem, 4 po). Na 10 konferencjach wygłaszała referaty. Wyniki badań były publikowane w uznanych czasopismach krajowych i zagranicznych: *Acta Botanica Croatica*, *Planta*, *Advance of Cell*, *The Nucleus*, *Folia Biologica*, *Polish Journal of Natural Sciences*, *Acta Biologica*, *Acta Mycologica*, *Polish Journal of Ecology*, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu i inne.

Wskaźniki naukometryczne uzyskane przez dr Magdalenę Achrem, w następstwie Jej działalności publikacyjnej są wysokie i wystarczające przy postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Wynoszą one (zgodnie z rokiem opublikowania):

- sumaryczny Impact Factor 16,893 (z czego 7,319 przypada na osiągnięcie naukowe), IF 5-letni 19,653 (z czego 8,324 przypada na osiągnięcie naukowe),
- liczba cytowań wg. Web of Science 34 (bez autocytowań 25),
- indeks Hirscha wg. Web of Science 3,
- suma punktów wg. listy MNiSW 407 (z czego 115 przypada na osiągnięcie naukowe).

Dokonania Habilitantki, zarówno w ujęciu liczbowym jak i jakościowym sprawiają, że cieszy się Ona uznaniem w środowisku naukowym, o czym świadczy powierzanie wykonywania recenzji:

- czterech dla czasopism naukowych o zasięgu międzynarodowym, indeksowanych w JCR (*Scientia Horticulturae*, *African Journal of Biotechnology*, *Turkish Journal of Botany*, *Journal of Applied Genetics*),
- jednej ekspertyzy książki prof. dr hab. R. Ziemińskiej pt. „Niebinarne i wielowarstwowe pojęcie płci”, na zlecenie Narodowego Centrum Nauki (2018).

Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego, organizacyjnego oraz współpracy międzynarodowej

Z przedłożonych dokumentów wynika, że prowadzone przez dr Magdalenę Achrem zajęcia dydaktyczne są związane tematycznie z zakresem Jej zainteresowań badawczych. Podczas pracy na stanowisku asystenta (1998-2006) i adiunkta (od 2006) prowadziła zajęcia dydaktyczne na Wydziale Biologii Uniwersytetu Szczecińskiego z przedmiotów: Biologia komórki, Biologia molekularna z cytogenetyką, Cytogenetyka i inżynieria chromosomowa, Cytogenetyka klasyczna, Biologia chromosomów, Epigenetyka, Genomika i epigenetyczna regulacja ekspresji genu, Mutacje i mutagenеза, Metody badań mikroskopowych, Wpływ czynników środowiskowych na genom i epigenom (na kierunkach: Biologia, Biotechnologia, Biologiczne Podstawy Kryminalistyki, Genetyka i inżynieria chromosomowa, Ochrona i Inżynieria Środowiska Przyrodniczego, Mikrobiologia). W okresie lat 2009-2018 Habilitantka była promotorem 16 prac magisterskich (kierunek: Biotechnologia, Biologiczne Podstawy Kryminalistyki) oraz 14 prac licencjackich (kierunek: Biotechnologia). Obecnie jest opiekunem dwóch osób wykonujących prace magisterskie (kierunek: Biotechnologia, Biologiczne Podstawy Kryminalistyki) oraz jednej osoby wykonującej pracę licencjacką (kierunek: Biotechnologia). Ponadto, sprawowała opiekę nad Sekcją Cytogenetyki Koła Naukowego Biologów Komórki Matrix (2006-2011), była opiekunem praktyk zawodowych studentów Wydziału Biologii z kierunków Biotechnologia (III rok I°) i Genetyka i Biologia Eksperymentalna (III rok I°). W ramach działalności dydaktycznej w latach 2006-2011 pełniła funkcję opiekuna roku na kierunku Biotechnologia I i II stopień, natomiast od 2014 roku jest opiekunem roku kierunku Biologia I i II stopień. Analizując działalność dydaktyczną dr M. Achrem podkreślić należy fakt dwukrotnego zajęcia I miejsca w konkursie Mentor Wydziału Biologii na najlepszego nauczyciela akademickiego (2010 i 2016r.), organizowanym przez Samorząd Studencki Wydziału Biologii.

Oceniając działalność dydaktyczną Habilitantki stwierdzam, że jest Ona czynnym i bardzo aktywnym nauczycielem akademickim. W tym zakresie spełnia jedną z głównych zasad szkolnictwa akademickiego łączenia dydaktyki z problematyką prowadzonych badań naukowych. Wypromowanie kilkunastu dyplomantów uznać można za początek własnej szkoły naukowej.

Dr Magdalena Achrem czynnie angażuje się również w zajęcia promujące i popularyzujące naukę w środowisku lokalnym. Wymiernym tego przykładem są m.in. zajęcia laboratoryjne z zakresu badań mikroskopowych, cytogenetycznych i biologii molekularnej w ramach akcji „Noc Biologów”, „Wiosna Biologów” i „Noc Naukowców” organizowanych

przez Wydział Biologii US (2008-2019). Od 2007 roku aktywnie uczestniczy, a od 2014 roku jest Koordynatorem Wydziałowym Zachodniopomorskiego Festiwalu Nauki. Prowadziła wykłady i zajęcia laboratoryjne dla uczniów kilku liceów i gimnazjów z woj. zachodniopomorskiego. Pod Jej opieką naukową uczennica XIII LO w Szczecinie Iga Walkowiak wykonała badania i napisała pracę „Ocena wpływu inhibitorów wrzeciona podziałowego na przebieg metafazy u cebuli zwyczajnej (*Allium cepa* L.)”, wyróżnioną na etapie okręgowym olimpiady a w 2015 roku zdobyła tytuł laureata Olimpiady Biologicznej. Od 2016 roku jest członkiem Komitetu Okręgowego Olimpiady Biologicznej w województwach zachodniopomorskim i lubuskim.

Dr M. Achrem aktywnie uczestniczy w działaniach na rzecz własnego Wydziału i Uniwersytetu. Potwierdzeniem są następujące fakty:

- członek Zespołu Kierunkowego i Wydziałowego ds. Jakości i Programów Kształcenia (2008-2017),
- członek Rady Wydziału Biologii (od 2008) a od 2016 roku również członek Senatu Uniwersytetu Szczecińskiego,
- członek Komisji ds. Wydawnictw Wydziału Biologii US na okres 2016-2020, od 2015 roku członek Rady Monitorującej projekt badawczy Centrum Biologii Molekularnej i Biotechnologii.

Dr. M. Achrem czynnie uczestniczyła lub uczestniczy w kilku programach międzynarodowych i krajowych takich m.in. jak:

- INTERREG 5A EWT POLSKA - MEKLEMBURGIA - BRANDRBURGIA 2014-2020,
- Europejski Fundusz Społeczny (EFS) poddziałanie 4.1.1 „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego uczelni” Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007-2013,
- Researchers’ Night-Szczecin Time (228506) w ramach 7. Programu Ramowego UE, 09.2008 i 09.2009.

Habilitantka pogłębia swą wiedzę oraz doskonali warsztat badawczy, odbywając różnego rodzaju staże naukowe w takich ośrodkach jak:

- Norwegian University of Life Sciences, Department of Plant and Environmental Sciences, As, Norwegia (2009 – 3 miesiące),
- Katedra Genetyki Zwierząt i Podstaw Hodowli Zwierząt, Akademia Rolnicza w Poznaniu (dwukrotnie po dwa tygodnie) lata 1999 i 2000,
- Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (jeden tydzień),

a także uczestnicząc w konferencjach naukowych t.j.:

- 8th Eucarpia rye meeting, Rostok (2006),
- Fourth European Cytogenetics Conference, Bolonia (2003).

Habilitantka jest członkiem Polskiego Towarzystwa Genetycznego oraz Polskiego Towarzystwa Genetyki Konserwatorskiej Lutreola.

Na przestrzeni lat 2011-2018 Habilitantka została kilkakrotnie wyróżniona m.in. dwiema nagrodami zespołowym JM Rektora Uniwersytetu Szczecińskiego II i III stopnia za szczególne osiągnięcia naukowe i dydaktyczne.

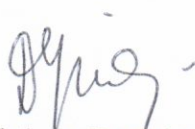
Podsumowanie i wniosek końcowy

Reasumując stwierdzam, że przedstawione przez dr Magdalenę Achrem osiągnięcia naukowe (5 publikacji), realizowana pozostała tematyka badawcza oraz działalność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzująca wiedzę jednoznacznie świadczą, że jest Ona przygotowana do samodzielnej pracy badawczej. Potrafi umiejętnie łączyć badania z nauczaniem – dydaktyką, organizować warsztat badawczy i efektywnie publikować w uznanych wydawnictwach naukowych. Jej dorobek naukowy, w tym przedstawione osiągnięcie stanowią znaczący wkład w rozwój nauk rolniczych w dyscyplinie agronomia.

Z pełnym przekonaniem wyrażam pogląd, że dr Magdalena Achrem spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego, określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz. U. 196, poz. 1165).

Uwzględniając powyższe wnoszę o dopuszczenie dr Magdaleny Achrem do dalszych etapów postępowania kwalifikacyjnego przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora habilitowanego nauk rolniczych.

Lublin, 21.10.2019


Prof. dr hab. Daniela Gruszecka