



INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY Radzików, 05-870 Błonie
Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych
60-479 Poznań, ul. Strzeszyńska 36,
tel. (48)61 84-64-205, -222; fax (48)61 823 38 71;
tceg@nico.ihar.poznan.pl

prof. dr hab. Teresa Cegielska-Taras
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin-PIB Radzików
Oddział w Poznaniu
Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych
60-479 Poznań, ul. Strzeszyńska 36

Ocena osiągnięcia naukowego, pozostałego dorobku naukowego, a także dorobku dydaktycznego, organizacyjnego, mobilności naukowej dr Anny Trojak-Goluch w związku z ubieganiem się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauki rolnicze, dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo

Najważniejsze fakty z życia zawodowego Kandydatki

Pani dr Anna Trojak-Goluch jest absolwentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytetu im. Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. W 1996 r. uzyskała dyplom magistra biologii przedstawiając pracę magisterską pt. "Zapylenie i zapłodnienie u *Oenothera brevistylis*. W latach 1996-2001 odbyła Studium doktoranckie przy Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach. W 2001r. uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii, nadany uchwałą Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa-PIB w Puławach. Tematem pracy doktorskiej była „Możliwość wykorzystania gatunku *Nicotiana glauca* Grah. w hodowli odmian tytoniu uprawnego odpornych na czarną zgniliznę korzeni *Thielaviopsis basicola* (Berk et Broome) Ferr.", której promotorem był prof. dr hab. Apoloniusz Berbeć.

Dr A. Trojak-Goluch w latach 1996-2001 była zatrudniona jako doktorantka w Zakładzie Hodowli i Uprawy Roślin Specjalnych. Od 2001 r. do chwili obecnej jest adiunktem w Zakładzie Hodowli i Uprawy Roślin Specjalnych, a od 2008 r. w Zakładzie Hodowli i Biotechnologii Roślin, Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach.

Dr Anna Trojak-Goluch od czerwca 1998 r. do stycznia 1999 przebywała na urlopie macierzyńskim oraz od lutego 2003 r. do lutego 2004 także była na urlopie macierzyńskim.

W trakcie swojej pracy naukowej Habilitantka odbyła krótkoterminowe staże naukowe w zagranicznych ośrodkach naukowych:

- 2013 r. Flanders Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food (ILVO), Plant Science Unit (Melle, Belgium – staż finansowany z 7FP "ProFiCienCy);
- 2020 r, w Institute of Botany, Laboratory of Flow Cytometry, Academy of Science Pruhovice, Czech Republic- staż finansowany z 7FP "ProFiCienCy".

Ocena osiągnięcia naukowego

Przedstawione przez dr A. Trojak-Goluch osiągnięcie naukowe pt. " **Wykorzystanie naturalnych źródeł odporności pochodzących od dzikich gatunków *Nicotiana* w hodowli tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.)**" odpornego na choroby grzybowe i wirusowe", stanowi cykl sześciu spójnych tematycznie, oryginalnych prac naukowych, opublikowanych w latach: 2007-2020. Pięć artykułów ukazało się w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports (JCR): Plant Breeding (2x),

Breeding Science (2x) i Euphytica oraz jedna publikacja ukazała się w czasopiśmie Polish Journal of Agronomy. Sumaryczny Impact Factor publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi **IF=7,346**, a liczba punktów **MNiSW=155**. Pięć prac jest współautorskich, a w jednej publikacji Kandydatka jest jedynym autorem. W pięciu pracach Habilitantka jest pierwszym i korespondującym autorem, a jej udział jest dominujący i wynosił : 90%, 75%(2x), 50%(2x). Wiodący wkład Kandydatki w tych pracach obejmował udział i opracowanie koncepcji badań, zaplanowania doświadczeń i wykonanie części eksperymentów: krzyżowania międzygatunkowego, ocenie i analizach cytologicznych, ocenie odporności na *Th. basicola* i TSWV przy użyciu biologicznych testów i selekcji roślin łączących te dwie odporności przy wykorzystaniu markerów molekularnych SCAR, ocenie cech morfologicznych tytoniu, plonowania i składu chemicznego liści a także udział w opracowaniu statystycznym wyników, indukcji androgeny *in vitro* w kulturach pylników, regeneracji roślin w kulturach *in vitro* oraz ocenie ploidalności roślin metodą cytometrycznego pomiaru ilości jądrowego DNA oraz interpretacji uzyskanych wyników badań, opracowaniu wstępu, materiałów i dyskusji oraz przygotowania manuskryptów do druku.

Podnoszenie odporności roślin na choroby to coraz bardziej pożądany kierunek badawczy w uprawach i ulepszaniu roślin użytkowych. Zapobiegać chorobą roślin uprawnych można na kilka sposobów, jednak bardzo skuteczną drogą jest prowadzenie i osiągnięcia hodowli odpornościowej. Głównym celem takiej hodowli jest wytworzenie nowych odmian odpornych lub tolerancyjnych na choroby a jednocześnie odznaczającym się wysokim poziomem plonowaniem. Jednym z postępowań takiej hodowli jest metoda introgresji genów odporności przede wszystkim z gatunków dzikich do nowych odmian roślin uprawnych.

Dr A. Trojak-Goluch w swoich pracach naukowych podjęła się tej bardzo ważnej, ale trudnej pracy badawczej nad powiększaniem odporności tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum* L.), który jest gatunkiem wrażliwym na wiele chorób. Kierunek badawczy, które podjęła dr A. Trojak-Goluch jest cennym i twórczym osiągnięciem naukowym nad wprowadzaniem genów odporności na choroby grzybowe i wirusowe z dzikich gatunków *Nicotiana* posiadających te geny, do nowych odmian wykorzystując współczesne metody hodowlane i biotechnologiczne oraz cytologiczne.

Najgroźniejszymi chorobami tej rośliny w uprawie w kraju i na świecie jest czarna zgnilizna korzeni powodowana przez patogen glebowy *Thielaviopsis basicola* (Berk. and Broom) syn. *Charala elegans* (Nag Raj and Kendrick) oraz brązowa plamistość pomidora sprawcą, której jest wirus brązowej plamistości pomidora (TSWV Francki i in. 1991), należący do rodzaju *Tospovirus*. W Polsce jest on przenoszony wyłącznie przez wciornastka tytoniowca (*Thrips tabaci* Lindeman). Introgresja genów odporności z dzikich krewnych i ich włączenie do genomu *N.tabacum* odbywa się głównie poprzez podstawienie pary chromosomów, substytucję segmentalną bądź addycje chromosomowe i inne zdarzenia. Nie jest to łatwa droga gdyż linie substytucyjne i addycyjne wnoszą także wiele cech niepożądanych w hodowli.

Dla wprowadzania nowej odporności na choroby wirusowe i grzybowe do nowych odmian tytoniu badania prezentowane w osiągnięciu naukowym dr A. Trojak-Goluch wpisują się w tematykę opracowania metod i wykorzystania technik cytologicznych, cytogenetycznych oraz biotechnologicznych (np. markerów molekularnych czy androgeny *in vitro*) do tworzonych mieszańców międzygatunkowych, poprzez poliploidyzację genomów oraz wielokrotne krzyżowania wsteczne z tytoniem (*N.tabacum*) i selekcję roślin odpornych na podstawie testów serologicznych i biologicznych i molekularnych.

Habilitantka w autoreferacie przedstawiła hipotezę badawczą osiągnięcia naukowego oraz sprecyzowała cel badawczy. W hipotezie badawczej Kandydatka napisała, że z jednej strony istnieją możliwości wykorzystania źródeł odporności dzikich gatunków *Nicotiana* w hodowli tytoniu, ale z drugiej strony konieczne jest także odbudowanie korzystnych gospodarczo cech użytkowych nowych genotypów. Dlatego dr A.Trojak-Goluch skupiła uwagę na badaniach nad:

- oceną możliwości introgresji genów z dzikich gatunków rodzaju *Nicotiana* do genomu tytoniu wykorzystując metody cytologiczne i genomowa hybrydyzację *in situ* (GISH);
- wykorzystaniem plazmy zarodkowej *N.glauca* do hodowli tytoniu odpornego na *Th. basicola* oraz wpływ wprowadzonej odporności (typu *galuca*) na cechy użytkowe tytoniu typu Virginia;
- połączeniem w genomie tytoniu odporności na *Th. basicola* i TSWV przy pomocy wytworzenia populacji linii podwojonych haploidów (DH) metodą androgeny *in vitro*, inokulacji w kontrolowanych warunkach i selekcji pożądanych genotypów przy pomocy markerów molekularnych;

- uzyskaniem i selekcją linii podwojonych haploidów tytoniu odpornych na *Th.basicola* i TSW o prawidłowej morfologii oraz o pożądanym cechach użytkowych tytoniu typu Virginia.

Pierwszym etapem prowadzonych badań była „Ocena możliwości introgresji genów z dzikich gatunków rodzaju *Nicotiana* do genomu tytoniu z wykorzystaniem metod cytologicznych i genomowej hybrydyzacji *in situ* (GISH)”;

Habilitantka rozpoczęła badania od krzyżowania *Nicotiana tabacum* L. x *Nicotiana glauca* Grab., która to potencjalnie jest interesującą dla hodowców, ponieważ jest odporna na czarną zgniliznę korzeni tytoniu. Materiałem badawczym (pub. 1.2.1) były mieszańce F1 uzyskane z krzyżowania *N.tabacum* odm. Wiślica z gatunkiem *N.gluca*. Badaniami zostały objęte amfidiploidy uzyskane z kolchicynowania roślin mieszańców F1 oraz populację seskwidiploidów otrzymaną z krzyżowania wstecznego z odmianą Wiślica. W celu oceny rekombinacji genetycznej pomiędzy tytoniem uprawnym i gatunkiem dzikim Habilitantka prowadziła obserwacje struktury chromosomów. Rośliny poszczególnych pokoleń oceniane były pod względem liczby chromosomów mitotycznych. Przeprowadzona została także ocena procesu mikrosporogenezy w pylnikach oraz analiza żywotności pyłku. Badania wykazały, że rośliny pochodzące z bezpośredniego krzyżowania *Nicotiana tabacum* odm. Wiślica x *Nicotiana glauca* wykazały dobrą żywotność. Wszystkie rośliny posiadały 36 chromosomów, o standardowej morfologii, były amfihaploidami (TTG, 2n=3x=36). Analiza pyłku amfihaploidów wykazała natomiast ich nieżywotność. Mieszańcom przywrócona została płodność poprzez poliploidyzację genomów i traktowanie kolchicyną roślin mieszańcowych. Dalsze prowadzenie badań nad interogresją międzygatunkową w mieszańcach było możliwe dzięki płodności amfidiploidów umożliwiających krzyżowanie wsteczne z *N.tabacum* i uzyskanie pokolenia seskwidiploidów, 2n=5x=60 chromosomów somatycznych. Uzyskane wyniki wskazywały, że translokacja mogła być mechanizmem introgresji między genomami *N.gluca* i *N.tabacum*.

Warto podkreślić, że publikacja (pub.1.2.1) opisująca „Badania przebiegu mejozy oraz płodności mieszańców międzygatunkowych *N.tabacum* i *N.gluca* oraz ich potomstwa”, opublikowana w czasopiśmie z listy JCR Plant Breeding, w 2008 r. została wyróżniona Nagrodą im. Wandy Maliszewskiej dla młodych naukowców pod auspicjami Dyrektora IUNG-PIB.

Drugą publikacją Habilitantki dotyczącą ocena możliwości introgresji genów z dzikich gatunków rodzaju *Nicotiana* do genomu tytoniu wykorzystując metody cytologiczne i genomowa hybrydyzację *in situ* (GISH) była wchodząca w skład osiągnięcia publikacja p.t. „Cytology and fertility of amphidiploid hybrids between *Nicotiana wuttkei* Clarson et Symon and *N. tabacum* L. (pub.1.2.4.) opublikowana w czasopiśmie Euphytica. Należy zaznaczyć, że w celu oceny liczby chromosomów i składu genomowego, uzyskanych mieszańców z wykorzystaniem genomowej hybrydyzacji *in situ*, Habilitantka odbyła staż w Plant Science Unit, Applied Genetics and Breeding, Institute for Agricultural and Fisheries Research ((ILVO) w Belgii i współpracowała z zespołem dr Katrijn Van Laere oraz mgr Ilya Kirov.

Publikacja (1.2.4.) obejmuje ocenę morfologiczną i cytogenetyczną oraz badania elementów płodności pokolenia amfidiploidów WWTTT, 2n=80 uzyskanego z mieszańców *N.wuttkei* (WW, n=16) x *N.tabacum* (TTTT, n=24) odm. Wiślica. W pracy opisano morfologię, zachowania meiotyczne, płodność i krzyżowalność mieszańców amfidiploidalnych WWTTT, 2n=80, z krzyżowania *N. wuttkei* (WW, n=16) x *N. tabacum* (TTTT, n=24) odm. Wiślica.

Podsumowując, stabilny amfidiploid *N. wuttkei* x *N. tabacum* można uznać za nowy syntetyczny gatunek mieszańcowy, który poszerzy zmienność genetyczną w obrębie *Nicotiana*. Ten mieszaniec może służyć jako punkt wyjścia do transferu użytecznych genów, takich jak odporność na *Peronospora hyoscyamissp. tabacina*, gatunkiem *N. wuttkei* do *N. tabacum*.

Kolejnym etapem badań dr A. Trojak-Goluch wchodzącym w skład osiągnięcia naukowego było: - „Określenie możliwości wykorzystania plazmy zarodkowej *N.gluca* do hodowli tytoniu odpornego na *Th. basicola* oraz ocena wpływu odporności typu *glauca* na cechy użytkowe tytoniu typu Virginia”.

Kontynuując badania Habilitantka prowadziła krzyżowania wsteczne seskwidiploidów (*N.tabacum* tetra Wiślica x *N.gluca* do *N.tabacum* Wiślica, a następnie selekcję roślin odpornych na *Th. brasicola* w kolejnych pokoleniach uzyskanych w wyniku samozapylenia. W efekcie Kandydatka uzyskała linie hodowlane WGL pokolenia BC₂F₅-BC₂F₇. Wyniki badań opisane zostały w czasopiśmie Plant

Breeding :” Growth, development and chemical characteristics of tobacco lines carrying black root rot resistance derived from *Nicotiana glauca* (Grah.)”, (**pub.1.2.2**). Ponadto prowadzona była ocena odporności tych pokoleń z wykorzystaniem inokulacji, oraz ocenę mikroskopową korzeni. Wyselekcjonowano 10 odpornych linii nie wykazujących żadnych objawów chorobowych. Linie te dały początek pierwszym w świecie liniom hodowlanym WGL (BC₂F₇) charakteryzującym się odpornością na *Th.basicola* typu *glauca* wprowadzona do genomu *N.tabacum* i wykorzystania jej w hodowli odmian uprawnych o odpowiednich cechach chemicznych surowca. W dalszych badaniach Kandydatka porównywała cechy morfologiczne i jakościowe roślin. Badania wykazały, że Linie hodowlane WGL1-WGL10 były bardzo zbliżone do obserwowanych rodzicielskich. Uzyskane rezultaty wskazują, że wprowadzenie odporności typu *glauca* do genomu tytoniu uprawnego nie wywierają negatywnego wpływu na jakość liści. Otrzymane wyniki pozwalają także na stwierdzenie, że wprowadzenie odporności typu *glauca* do odmiany Wiślica nie pogarszają składu chemicznego surowca tytoniowego.

Odporność jednej wyselekcjonowanej linii (WGL3 syn.WGLB) charakteryzująca się najlepszymi cechami użytkowymi oraz stabilną odpornością na *Th. basicola* została wykorzystana jako forma rodzicielska do uzyskania pierwszej odmiany z odpornością typu *glauca*. W rezultacie krzyżowania wyselekcjonowanej linii z cytoplazmatycznie męskosterylną formą Wiślica powstała **odmiana Wigola**, zarejestrowana w COBORU w 2014 r. Obecnie jest uprawiana w kraju, na znacznym areale. Jak zaznaczyła Habilitantka po raz pierwszy udało się przenieść odporność typu *glauca* do genomu *N.tabacum* i wykorzystania jej w hodowli odmiany tytoniu uprawnego.

Następnym etapem badawczym dr A. Trojak-Goluch była: „Ocena możliwości połączenia w genomie tytoniu odporności na *Th.basicola* i TSWV przy zastosowaniu androgenyzy *in vitro*, inokulacji w kontrolowanych warunkach i markerów molekularnych.”

W nowoczesnym trendzie hodowli roślin uprawnych często wykorzystywane jest łączenie genów odporności na różne choroby w jednym genotypie. Taką strategię na tym etapie badań przyjęła Habilitantka. Celem przystąpienia do badań było połączenie w jednym genomie tytoniu odporności na *Th.basicola* i TSWV (**pub.1.2.3**). Czarna zgnilizna korzeni (BRR) wywoływana przez *Thielaviopsis basicola* oraz wirus plamistej plamistości pomidora (TSWV) to najpoważniejsze problemy w regionach uprawy tytoniu.

Materiałem wyjściowym do badań była linia hodowlana WGL 3 (syn. (WGLB) niosąca odporność na BRR pochodząca od *N.glauca*, z linią PW-834, której odporność na TSWV została przeniesiona z odmiany Polalta. Droga androgenyzy w kulturze pylników *in vitro* mieszańca F1 uzyskana została populacja linii podwojonych haploidów. Otrzymane androgeniczne linie, przeważnie haploidy, zostały klonowane w kulturach *in vitro* i ocenione pod kątem odporności na BRR i TSWV (**pub.1.2.3**). Otrzymane wyniki dowodzą, że odporność na dwie ważne choroby tytoniu: odporność na TSWV z cv. Polalta i wywodzącą się z *N. glauca* odporność na czarną zgniliznę korzeni można z powodzeniem połączyć w jednym genomie tytoniu. Badania te dostarczyły również dodatkowych danych na temat natury i wzorów dziedziczenia obu źródeł odporności. Otrzymane haploidalne genotypy łączące gen lub geny odporności na czarną bakterię korzeni i gen odporności na TSWV stanowią materiał wyjściowy do opracowania linii wsobnych do wykorzystania w komercyjnej hodowli tytoniu.

Podsumowującym etapem zaplanowanych badań, nad otrzymaniem odpornych na choroby tytoniu, prowadzonych przez dr A. Trojak-Goluch było: „Uzyskanie i selekcja linii podwojonych haploidów odpornych na *Th.brasicola* i TSWV, wykazujących prawidłową morfologię oraz pożądane cechy użytkowe tytoniu typu Virginia (pub.1.2.5)”

Kontynuując badania dotyczące możliwości połączenia w genomie tytoniu odporności na TSWV i *Th basicola* Habilitantka wykorzystwała technikę androgenyzy w kulturze *in vitro* i regeneracji androgenicznych roślin, w znaczący sposób skracając czas uzyskiwania homozygotycznych linii o pożądanych cechach, które potencjalnie mogą stać się nowymi odmianami. Do badań wykorzystane zostały haploidy dwukierunkowych mieszańców F1 WGL3 x PW834 linie opisane w publikacji (**pub.1.2.6**). Ponadto badano także haploidy dwukierunkowych mieszańców F1 (BPA i WGL3 oraz WABPA3 i WGL3), których linie rodzicielskie były liniami hodowlanymi tytoniu BPA, WABPA3 i WGL3 uzyskane w wyniku krzyżowania oddalonego w rodzaju *Nicotiana*, a zawierające geny

odporności z dzikich gatunków. Wynikiem tych badań było stwierdzenie zależności pomiędzy genotypem rośliny dawcy pylników a zdolnością do indukcji podwojonych haploidów. Uzyskany materiał roślinny stał się celem dalszych badań opisanych w kolejnej publikacji (**pub.1.2.5**) wchodzącej w skład prezentowanego osiągnięcia naukowego Habilitantki. Celem badań było wyselekcjonowanie genotypów podwojonych haploidów tytoniu posiadających geny odporności na *Th basicola* i TSWV oraz ich ocena fenotypowa i chemiczna analiza jakościowa liści. W badaniach uwzględniono także linie rodzicielskie z odpornością badanych patogenów. Do tych celów Kandydatka wykorzystała testy ELISA, oraz markery molekularne SCAR. Natomiast dla oceny odporności na *Th brasicola* przeprowadzono na podstawie objawów chorobowych z wykorzystaniem analiz mikroskopowych.

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że metoda indukcji podwojonych haploidów nie spowodowała utraty genu RTSW-al. czy jego ekspresji, ponieważ cecha odporności na TSWV była utrzymana w kolejnych pokoleniach. Linie DH nie wykazywały także objawów czarnej zgnilizny korzeni, co potwierdziło, że gen odporności na *Th. basicola* typu *glauca* jest wysoce efektywny i może być wykorzystany w dalszych pracach hodowlanych. Badane linie DH nie wykazywały objawów chorobowych na obie choroby.

Wyniki tych badań stanowią pierwsze doniesienie w świecie o liniach hodowlanych tytoniu z odpornością na *Th brasicola* i TSWV, a jednocześnie posiadające cechy fenotypowe i jakościowe liści typowe dla tytoniu Virginia. Wyselekcjonowane linie są doskonałym materiałem hodowlanym do tworzenia odmian mieszańcowych tytoniu.

Podsumowanie osiągnięcia naukowego dr A. Trojak Goluch

Podsumowując osiągnięcie naukowe, mogę stwierdzić, że przedstawiony przez dr trojak-Goluch cykl publikacji pod wspólnym tytułem „**Wykorzystanie naturalnych źródeł odporności pochodzących od dzikich gatunków *Nicotiana* w hodowli tytoniu (*Nicotiana tabacum*) odpornego na choroby grzybowe i wirusowe**” wnosi istotny wkład do rozwoju uprawianej przez Kandydatkę dyscypliny naukowej. Rezultaty tych badań poza czynnikiem poznawczym mają przede wszystkim potencjał aplikacyjny. Uzyskane wyniki przez Habilitantkę rzucają nowe światło na wykorzystania zasobów odpornościowych na choroby i wirusy dzikich form *Nicotiana* w celach aplikacyjnych oraz w dalszym prowadzeniu badań nad uzyskaniem linii hodowlanych tytoniu z odpornością, a jednocześnie posiadające cechy fenotypowe i jakościowe liści typowe podobne jak tytoniu Virginia. Istnieje więc możliwość do tworzenia odpornych na badane choroby odmian tytoniu. Opracowana przez Habilitantkę metoda oraz wyniki wskazują na celowość wykorzystania metod biotechnologicznych takich jak tworzenie homozygotycznych linii czy selekcja z wykorzystaniem markerów biologicznych, serologicznych czy molekularnych. Takie postępowanie umożliwi skrócenie uzyskania linii wykazujących odporność na dwie najważniejsze choroby tytoniu *Th brasicola* i TSWV w jednym genotypie bez pogorszenia cech użytkowych tej rośliny.

Do najważniejszych osiągnięć wynikających z podjętych badań należy:

a/ wykazanie, że niezgodność genetyczna między odległymi filogenetycznie gatunkami *N.tabacum* i *N.galuka* występuje w różnych stadiach mikrosporogenezy, co skutkuje niskim stopniem koniugacji chromosomowej oraz zaburzeniami płodności pyłku amfihaploidalnych, amfidiploidalnych i seskwidiploidalnych mieszańców międzygatunkowych. Jednakże pomimo braku homologii genomów rodzicielskich obserwowane aberracje chromosomowe mogły prowadzić do introgresji pożądaných genów warunkujących korzystne cechy użytkowe, jak odporność na choroby, z genomu *N.gluca* do *N.tabacum*

b/ Określenie kompozycji genomowej mieszańców, amfidiploidów, WWTTTT (*N.wuttkei* x *N.tabacum* odm. Wiślica możliwe było przy wykorzystaniu techniki GISH. Analizy cytologiczne w komórkach macierzystych pyłku tych mieszańców wykazały, że mechanizmami warunkującymi międzygatunkową rekombinację są: substytucja segmentalna, a także translokacje chromosomowe. Linie amfidiploidów *N.wuttkei* x *N.tabacum* odm. Wiślica stanowią doskonały materiał umożliwiający introgresję genów warunkujących odporność na choroby.

- c/ Uzyskanie z mieszańców międzygatunkowych *N.tabacum* x *N.glauca* i w wyniku krzyżowań wstecznych z formą uprawną, linie hodowlane WGL z odpornością na *Th. basicola* typu *glauca* odpowiadające wymogom jakościowym dla praktyki rolniczej i przemysłu,
- d/ Wykazanie, że linie WGL są dobrymi dawcami odporności na *Th. basicola* typu *glauca*. Dlatego mogą być wykorzystane jako formy rodzicielskie w programach hodowlanych.
- e/ Opracowanie metodyki postępowania badawczego: z wykorzystaniem androgenyzy *in vitro* następnie klonowaniem roślin haploidalnych oraz oceny odporności przy stosowaniu testów biologicznych, serologicznych oraz markerów molekularnych SCAR, co umożliwiło efektywną selekcję genotypów tytoniu łączących odporność na TSWV i na *Th. Basicola*.
- f/ Wykazanie możliwości wprowadzenia odporności na TSWV typu *alata* do genomu tytoniu Virginia i przełamania negatywnego efektu sprzężenia pomiędzy genem odporności *RTSW-al.* a genami odpowiadającymi za deformację morfologiczną roślin na co wskazuje ocena cech morfologicznych linii podwojonych haploidów z mieszańców *N.tabacum* WGL3 x PW 834 i występowanie genotypów o niezmienionym fenotypie.

Podsumowanie osiągnięcia naukowego

Badania całego cyklu sześciu spójnych tematycznie publikacji naukowych, zaprezentowany jako osiągnięcie naukowe Habilitantki, wykazały możliwość wykorzystania naturalnych źródeł odporności dzikich gatunków *Nicotiana: N.glauca, N.wuttkei* oraz *N.alata* w hodowli odpornościowej. Efektami takiego postępowania badawczego są uzyskane linie odporne na *Th basicola*, linie hodowlane WGL, które zostały wykorzystane do tworzenia odmiany Wigola wdrożonej do. Ponadto bardzo ważne było osiągnięcie uzyskania linii DH tytoniu (*N.tabacum* WGL3 x PW834) wykazujących jednocześnie odporność na *Th basicola* i TSWV charakteryzujące się cechami morfologicznymi takimi jak dla odmian w typie Virginia. Należy podkreślić, że Habilitantka osiągnęła taki sukces dzięki doskonałemu opracowaniu metodycznemu swoich badań, wspomagając się biotechnologicznymi metodami przyspieszającymi przede wszystkim proces selekcji pożądaných genotypów: jak kultury *in vitro*: androgenyza, klonowanie haploidów, a także stosowanie markerów molekularnych oraz technik cytogenetycznych.

Ocena pozostałego dorobku naukowego i badawczego nie wchodzącego w skład głównego osiągnięcia- po doktoracie

Poza publikacjami, które stanowiły cykl osiągnięcia naukowego, dr A. Trojak-Goluch ma w swoim dorobku 8 oryginalnych prac naukowych, współautorskich, które powstały po doktoracie, ukazały się w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, z bazy Journal Citation Reports takich jak: Journal of Applied Genetics, Plant Breeding, Journal of Food Agriculture and Environment, Breeding Science (2x), In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant, Indian J. Genet, Czech J. Genet. Plant Breed. Sumaryczny impact factor wg Journal Citation Reports; IF w roku wyd.=7,229, IF 2018-209=7,917; MNiSW_{roku wyd.} = 196, IF w2019 = 410

Wkład pracy Habilitantki w powstanie publikacji wynosił of 35% do 80%

Udział Habilitantki w tych pracach poza planowaniu koncepcji badań, był także w wykonaniu krzyżowania międzygatunkowego, krzyżowań wstecznych z tytoniem, przede wszystkim w wykonaniu analiz cytologicznych mieszańców, ocenie odporności roślin na *Th brasicola*, w kulturach *in vitro*, cytometrycznej ocenie stopnia ploidalności, a także użyciem markerów molekularnych, analizie statystycznej, opracowaniem wyników i przygotowaniu lub współudziału w redagowaniu manuskryptu. Kandydatka zajmowała się także badaniami nad indukcją poliploidów chmielu w kulturach *in vitro*. Świadczy to, że dr A. Trojak-Goluch jest pracownikiem naukowym o dużych umiejętnościach, wykonując wiele eksperymentów na różnym materiale biologicznym oraz jest biegłą w posługiwaniu się nowoczesną technologią badawczą. W sześciu publikacjach Kandydatka jest pierwszym autorem i korespondującym, w jednej autorem korespondującym.

Habilitantka jest także pierwszym autorem oraz korespondującym w pięciu publikacjach oraz w jednej pierwszym autorem w czasopismach spoza listy *Journal Citation Report*. Wkład pracy Habilitantki w powstanie publikacji wynosił of 65% do 100%.

W dorobku po doktoracie Kandydatka jest także współautorką w ośmiu publikacjach w języku polskim i angielskim, w tym w czasopismach niepuktowanych w JCR w roku wydania, a które obecnie (2020) są już punktowane: *Acta Biologica Cracoviensa* (2x) i *Acta Biochimica Polonica* (2x). Do kategorii niepuktowanych w JCR należą także publikacje w *Biuletynie Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* (3x) oraz dwie monografie. Podsumowując tę kategorię publikacji Habilitantka w siedmiu z nich jest pierwszym autorem, a Jej wkład wynosi od 33% -100%.

Dr A. Trojak-Goluch jest także współautorka i autorką (2x) trzech artykułów popularno-naukowych.

Ocena aktywności naukowej, dorobku popularyzatorskiego i dydaktycznego

Podsumowanie dorobku naukowo - badawczego

Pani dr A. Trojak-Golub wykazuje dużą aktywność naukową i badawczą, opartą o znakomitą współpracę z wieloma zespołami badawczymi. W swojej pracy naukowej konsekwentnie dąży do poszerzania współpracy w celu rozwiązania ważnych i trudnych problemów badawczych. W dużej mierze jej osiągnięcia mają przełożenie aplikacyjne. Habilitantka jest bardzo aktywnym pracownikiem naukowym. Świadczy o tym Jej duże zaangażowanie w realizację projektów badawczych zarówno ze środków krajowych jak i zagranicznych.

Duża liczba projektów, w których uczestniczyła Pani Doktor, głównie w charakterze wykonawcy świadczy o jej umiejętności pracy zespołowej i sprawności w pozyskiwaniu funduszy na badania oraz dobrym warsztacie badawczym, zwłaszcza w zakresie wykorzystania i aplikacji najnowszych technik badawczych szczególnie związanych z kulturami *in vitro*.

Podsumowanie dorobku popularyzatorskiego i dydaktycznego

Kandydatka kilkakrotnie występowała na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych wygłaszając referaty o wynikach swoich badań. Dorobek Habilitantki zawiera także 18 komunikatów naukowych w materiałach konferencyjnych krajowych i 21 międzynarodowych.

Ta aktywność konferencyjna dr Trojak-Goluch wskazuje na Jej dużą wiedzę i ciekawe osiągnięcia naukowe, akceptowane do wystąpień na międzynarodowym forum. Kandydatka była także członkiem komitetów organizacyjnych trzech komitetów organizacyjnych konferencji naukowych.

Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka uczestniczyła jako wykonawca międzynarodowego projektu: „Managing the Production of Food and feedstuff, their safety and quality under Global Climate Change”, w latach 2008-2013r. Realizowała także jako wykonawca trzy projekty z KBN (2x) i NCBiR, a jako kierownik projektu, z nich dwa są obecnie w trakcie realizacji.

Habilitantka w latach 2007-2019 była członkiem organizacji: Cooperation Center for Scientific Research Relative to Tobacco (CORESTA) Francja, w latach 2012 członkiem European Association Society for Agronomy (ESA) Francja, a od 2010-obecnie jest członkiem European Association Tobacco Research and Experimentation (AERET) Francja

Dr A. Trojak-Goluch odbywała staże naukowe w zagranicznych ośrodkach w2010 r w Laboratory of Flow Cytometry, Academy of Science, Pruchonice Czech Republic, w2013 r. w Institute of Agricultural and Fisheries Research (ILVO), Plant Science Unit: Breeding, Melle Belgium.

Dr A. Trojak-Goluch prezentowała swoje dokonania naukowe (postery) na 22 międzynarodowych konferencjach organizowanych w Polsce. Kandydatka prezentowała wyniki swoich badań na 29 konferencjach o zasięgu krajowym

Dr A. Trojak-Goluch posiada także duże doświadczenie dydaktyczne na co składa się aż 72 wykłady, wygłoszone w latach 2004-2019; propagując transfer badań innowacyjnych i wiedzy rolniczej w oparciu o własne wyniki badań naukowych i o kierunkach nowoczesnej hodowli roślin użytkowych: dla studentów agronomii i biotechnologii SGGW w Warszawie, dla studentów biotechnologii UMCS w Lublinie, wykład w j. angielskim na UP w Lublinie w ramach międzynarodowego programu, oraz dla studentów biotechnologii UP w Lublinie, dla studentów biotechnologii i inżynierii środowiskowej Uniwersytetu Opolskiego, dla studentów kierunku

rolniczego Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, dla studentów Akademii Podlaskiej w Siedlcach, dla studentów Państwowej Szkoły Wyższej w Białej Podlaskiej oraz studentów Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej w Chełmie oraz dla studentów WSHP Sandomierz Ponadto prowadziła wykłady dla uczniów Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej w Krośnie. Dr A. Trojak-Goluch propagowała ponadto wiedzę o wykorzystaniu metod hodowli klasycznej i nowoczesnej w tworzeniu postępu w hodowli tytoniu i chmielu, słuchaczom Zespołów Szkół Centrum Kształcenia Rolniczego: w Chwałowicach, Leśnej Podlaskiej, Potoczku, Jabłoni i Siennicy Różanej, Kowali, Jabłonnej, a także dla słuchaczy Świętokrzyskiego ODR w Modliszewicach.

Dr A. Trojak Goluch bierze aktywny udział w popularyzacji nauki: poprzez wykłady szkołach średnich. Habilitantka włączyła się ponadto w propagowanie osiągnięć wdrożeń nowoczesnej rolniczej wiedzy do praktyki uczniom Liceów Ogólnokształcących w Puławach, w Lublinie i Wołominie, Piotrowicach. Ponadto prowadziła liczne wykłady dla uczniów: Techników w Brwinowie i Szkół Zawodowych w Klementowicach, Puławach, Sandomierzu, Jabłonnej, Studzieńcu oraz Centrum Kształcenia Praktycznego w Białymstoku

Habilitantka w swojej karierze naukowej ukończyła także szereg kursów i szkoleń krajowych poszerzających swoją wiedzę na temat nowych technik z zakresu biotechnologii, statystyki, cytogenetyki i in.

Kandydatka recenzowała artykuły naukowe do publikacji w wielu czasopismach o zasięgu międzynarodowym wyróżnionych w JCR: jak *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, *IN Vitro Cellular and Developmental Biology –Plant* (3x), *Archives of Agronomy, and Soil Science*, *Journal Agriculture Science and Technology* (2x), *Acta Physiologiae Plantarum* (2x), *Crop & Pasture Science*, co świadczy o Jej rozpoznawalności naukowej w dziedzinie, którą reprezentuje.

Po uzyskaniu stopnia dr realizowała Dr A. Trojak- Golub uczestniczyła w dziewięciu, a jeden jest w trakcie realizacji, tematach badawczych w ramach działalności statutowej JUNG. W trzech wymienionych była kierownikiem a w czterech wykonawcą. Kandydatka brała także udział w wykonaniu trzech tematów Programu Wieloletniego IUNG-PIB. Habilitantka brała udział w pracach zespołów realizujących umowy w ramach współpracy międzynarodowej jako kierownik zadania WP1 i realizowany obecnie kierownik projektu finansowany przez Philips Morris Products S.A, a w 2017 roku uczestniczyła ponadto jako członek w zespole „ Hodowla Roślin w Polsce przy Ministrze Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

Dr A. Trojak- Golub bardzo aktywnie współpracowała z sektorem gospodarczym, krajowym i zagranicznym jako jedna z wykonawców ze strony IUNG w ramach Umowy: w 2005 r z F& N Agro Polska, Crompton Europe Limited sp. z.o.o., w 2007 i 2010 r, Uniwersal Leaf Tobacco Poland z o.o. w latach 2006, 2007, 2008r i 2009 z Bayer Crop Science sp. z o.o.

Habilitantka efektywnie współpracowała z wieloma zagranicznymi ośrodkami naukowymi w ramach opracowania projektu i realizacji: 2009-2012: z University Hohenheim, Plant Breeding, Seed Science and Population Genetics, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Niemcy; 2009 r. Laboratory of Flow Cytometry (LFC) Institute of Botany, Academy of the Czech Republic, Plant Science Unit, Applied Genetics and Breeding, Institute for Agriculture and Fisheries Research (ILVO) Belgia, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Deptment of Plant Breeding and Technology, Mazandaran, Iran, w latach 2015-2019, ramach umowy z Philip Morrid Product SZ, dział naukowy, Szwajcaria, w 2017 r. w opracowaniu projektu BONHOPID 2150 z Uniwersytetm Santiagi de Compostela, Hiszpania, Department of Agroforestry Engieering, a także przyopracowaniu projektu Horizon 2020 współpraca z INSTM Research Unit of Firenze, Włochy, Department of Chemistry, UNIFI.

Ponadto dr A. Trojak-Golub bardzo czynnie współpracowała także z krajowymi ośrodkami naukowymi: koordynowała liczne współprace: z Uniwersytetem im. Adama Mickiewicz w Poznaniu, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Mikrobiologii – współpraca dydaktyczna w ramach prowadzenia wspólnych badań cytometrycznych; z Uniwersytetem Przyrodniczym w Lublinie, Pracownią Żywności Ekologicznej Pochodzenia Roślinnego w ramach współpracy biologicznych środków ochrony roślin w zwalczaniu chorób grzybowych zbóż (wspólne publikacje); była osobą odpowiedzialną za współprace ze Szkołą Główną Gospodarstwa Wiejskiego, Wydziałem Rolnictwa i

Biologii, Katedrą Agronomii; w latach 2005-2007 współpracowała z Akademią Rolniczą w Lublinie, Instytutem Nauk Rolniczych w Zamościu w ramach hodowli tytoniu odpornego na czarną zgniliznę korzeni.

Dr A. Trojak-Golub jest współautorką siedmiu odmian przyznanych decyzją Centralnego Ośrodka Badania Odmian Uprawnych : w 2008 r. odmiany Ventura i odm. Virgo, 2009 r. odm. VRG2, w 2011 r. odm. TNSB1, w 2013 r. VRG5TL, w 2014 r. odm. Wigola, w 2020 r. odm. Amera.

Habilitantka wykonywała siedem ekspertyz i innych opracowań na zamówienie MRiRW; w 2017 r. była to dotycząca wyhodowania i wdrożenia odmian Wigola i VRG10TL, a w 2018 r. dotycząca produkcji surowca tytoniowego i możliwości redukcji kosztów oraz zwiększenia mechanizacji uprawy tej rośliny, natomiast w latach 2015-2019 opracowania dotyczyły porównania plonowania i jakości tytoniu Virginia w rejonach o zróżnicowanych warunkach glebowo-klimatycznych; , a w 2018 dotyczącej odm. Burley.

Dr A. Trojak-Golub w latach 2005-2019 wykonała aż 35 opracowań i ekspertyz na zamówienie różnych instytucji dotyczących badań skuteczności biologicznej wielu środków chemicznych w zwalczaniu chorób grzybowych tytoniu i zbóż.

Kandydatka prowadziła także opiekę naukową nad młodym pracownikiem naukowym realizującym badania statutowe, była także opiekunem naukowym stażysty zagranicznego odbywającego praktykę naukową w zakładzie Hodowli i Biotechnologii IUNG-PIB. Habilitantka sprawowała opiekę naukową nad praktykantami studentów z UP Lublinie, KUL-u w Lublinie, z Uniwersytetu Warszawskiego, z SGGW w Warszawie. Prowadziła szkolenie doktoranta z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Biologii Eksperymentalnej, UAM w Poznaniu.

Nagrody i wyróżnienia za działalność naukową

Za działalność naukową Dr A. Trojak-Goluch została wyróżniona w **2008 r.** i otrzymała Nagrodę im. Wandy Maliszewskiej dla młodych naukowców pod patronatem Dyrektora IUNG-PIB, za wyróżniającą publikację.

W 2013 roku Habilitantka otrzymała nagrodę zespołową Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi za wybitne krajowe osiągnięcie mające znaczenie dla wdrażania postępu w praktyce rolniczej oraz współdziałanie w realizacji, wdrażaniu i upowszechnianiu wyników pracy naukowej pt:” Wyhodowanie i wdrożenie do produkcji odmian mieszańcowych tytoniu Virginia odpornych na czarna zgniliznę korzeni”, w **2012 r.** dr A. Trojak-Goluch otrzymała nagrodę I stopnia Dyrektora Instytutu Uprawy i Gleboznawstwa-PIB za wyhodowanie i wdrożenie do produkcji odmian mieszańcowych tytoniu typu Virginia odpornych na czarna zgniliznę korzeni.

Inne niewymienione a wymierne osiągnięcia

Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka wielokrotnie uczestniczyła r. przygotowaniu wniosków projektów badawczych: w 2002, 2009 własnych KBN oraz w 2009 r. przygotowaniu merytorycznym wniosku z Frame work Programme 7- REGPOT-2009-1, FP7 oraz udział w przygotowaniu merytorycznych zagadnień na rzecz projektu: finansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 złożony przez firmę Energy Composites w 2016r oraz w 2017 udział w przygotowaniu projektu międzynarodowego: ID2150, BONHOP Building na Organic Network in European Hop Research w ramach CORE Organic Cofund (Coordination of European Transational Research in Organic Food and Farming Systems, a także w przygotowaniu Kandydatka brała udział w przygotowaniu w roku 2017 dwóch wniosków do NCBIR oraz w 2019r. do projektu NCN Preludium 18

Dr A. Trojak-Goluch udzielała się także w propagowaniu osiągnięć naukowych w mediach.

Ponadto podkreślam bardzo starannie opracowany przez dr A. Trojak-Goluch zbiór opracowań i dokumentów wymaganych w postępowaniu habilitacyjnym.

Podsumowanie

Podsumowując, nie ulega wątpliwości, że dr Anna Trojak-Goluch jest dojrzałym badaczem, ze sprecyzowanym obszarem zainteresowań naukowych. Poza swoimi badaniami jest otwarta na różnego

rodzaju współpracy naukowej, zarówno z doświadczonymi badaczami jak i z młodszymi pracownikami naukowymi, którym służy pomocą i swoim doświadczeniem. Badania zawarte w ocenianym osiągnięciu naukowym prezentują aktualną i nowoczesną tematykę naukową. Dorobek naukowy Habilitantki jest znaczący i zauważalny przez środowisko naukowe. Habilitantka posiada umiejętność kreatywnego rozwijania uprawianej tematyki badawczej i efektywnego publikowania otrzymanych wyników naukowych, posiada wysokie kwalifikacje do prowadzenia samodzielnej pracy naukowo-badawczej. Warte podkreślenia jest także jej doświadczenie dydaktyczne, konieczne dla prawidłowo rozwijającej się kariery naukowej.

Podsumowując uważam, że wszystkie elementy aktywności naukowej jakich oczekiwano by się ze strony osoby pretendującej do stopnia doktora habilitowanego zostały w pełni, jeśli nie z nadmiarem spełnione.

Ponadto podkreślam bardzo starannie opracowany przez Habilitantkę zbiór wymaganych opracowań i dokumentów.

Uwagi końcowe

Reasumując, mogę stwierdzić, że dr A. Trojak-Goluch uzyskała dla nauki wyniki o dużym znaczeniu poznawczym i aplikacyjnym. W mojej opinii, przedstawione przez Habilitantkę publikacje stanowią cykl spełniający wymogi dla osiągnięcia naukowego wymienianego w ustawie z 14 marca 2003 r. *o stopniach i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki* (Dz.U. z 27 września 2017 r. poz. 1789), zgodnie z art. 179 ustawy z 3 lipca 2018 r. – *Przepisy wprowadzające ustawę-Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. z 30 sierpnia 2018 r. poz.1669). Także pozostała aktywność naukowa, umiejętność pozyskiwania funduszy na realizację badań oraz doświadczenie dydaktyczne i popularyzatorskie oraz organizacyjne odpowiadają kryteriom oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, przedstawionym z Rozporządzeniu MNiSW z dnia 1 września 2011 r. Dlatego w pełni popieram wniosek dr Agnieszki Trojak-Goluch o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie rolnictwo.

Jeżeli w Instytucie Uprawy i Nawożenia i Gleboznawstwa - PIB jest praktykowane wyróżnienie w postępowaniu habilitacyjnym wnoszę wniosek do Rady Naukowej o wyróżnienie.

Poznań, 11.02.2021

Teresa Cegiełka-Tarasz