

Prof. dr hab. Barbara Kołodziej
Nauki rolnicze
Katedra Roślin Przemysłowych i Leczniczych
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin, 8.02.2021 r.

Recenzja osiągnięcia naukowego pt.:

„Wykorzystanie naturalnych źródeł odporności pochodzących od dzikich gatunków *Nicotiana* w hodowli tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) odpornego na choroby grzybowe i wirusowe”

– cykl 6 publikacji

oraz dorobku naukowego dr Anny Beaty Trojak-Goluch w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk rolniczych w dziedzinie nauki rolnicze, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo

wykonana na zlecenie prof. dr hab. Janusza Podlesnego Z-cy Przewodniczącego Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach z dnia 21.12.2020 r.

Podstawa opracowania

Podstawą wystawienia niniejszej oceny była decyzja Rady Doskonałości Naukowej z dnia 30 października 2020r. odnośnie wyznaczenia części składu Komisji Habilitacyjnej w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dr Annie Beacie Trojak-Goluch w dziedzinie nauki rolnicze, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, wszczętym w dniu 7 września 2020r. oraz uchwałą Rady Naukowej IUNG-PIB z dnia 30 listopada 2020 r. dotycząca powołania Komisji Habilitacyjnej do przeprowadzenia czynności w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Annie Beacie Trojak-Goluch. W/w decyzją oraz uchwałą powołano mnie na recenzenta w tym postępowaniu.

Ocenę osiągnięć naukowych dr Anny Beaty Trojak-Goluch przeprowadziłam na podstawie przesłanych mi następujących dokumentów i materiałów:

1. autoreferatu zawierającego informacje na temat życiorysu zawodowego Habilitantki, osiągnięcia naukowego przedstawionego jako monotematyczny cykl 6-iu publikacji z syntetycznym przedstawieniem celu naukowego i opisem uzyskanych wyników oraz omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych wraz z tłumaczeniem na język angielski;
2. załączonych 6-iu publikacji stanowiących cykl monotematyczny;
3. oświadczeń o udziale Habilitantki i współautorów w powstaniu publikacji włączonych do jednotematycznego cyklu;
4. kopii dokumentów potwierdzających posiadanie stopnia doktora, staże naukowe, uzyskanie wyłącznego prawa do odmian, zaświadczeń dotyczących uczestnictwa w pracach zespołów badawczych i przyznanych nagród;

5. wykazu osiągnięć naukowych i kopii (w postaci skanów i plików na nośniku) wybranych opublikowanych prac naukowych oraz informacji o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki oraz danych naukometrycznych i teleadresowych przedłożonych w postaci 10 załączników.

Stwierdzam, że przesłane materiały są kompletne i spełniają wymagania określone w art. 220 ust. 1 p.1 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018r. (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). Pani dr Anna Trojak-Goluch może być dopuszczona do postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego, ponieważ w dniu 16 listopada 2001 roku uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii. Podstawą nadania stopnia doktora była rozprawa pt. „Możliwości wykorzystania gatunku *Nicotiana glauca* Grah. w hodowli odmian tytoniu uprawnego odpornych na czarną zgniliznę korzeni *Thielaviopsis basicola* (Berk. Et Broome) Ferr.”. Praca obroniona została w przy Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach. Promotorem był prof. dr hab. Apoloniusz Berbec, a recenzentami: prof. dr hab. Danuta Miazga oraz prof. dr hab. Stanisław Węgrzyn.

Najważniejsze fakty z życiorysu zawodowego Habilitantki

Dr Anna Trojak-Goluch urodziła się 1 stycznia 1972r. w Puławach. W 1996 roku ukończyła studia na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie uzyskując tytuł magistra biologii. Następnie odbyła czteroletnie studia doktoranckie przy Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach. Pracę doktorską wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Apoloniusza Berbecia, obroniła w 2001 roku. W tym samym roku została zatrudniona na stanowisku adiunkta w Zakładzie Hodowli i Uprawy Roślin Specjalnych (który od 2008 roku zmienił nazwę na Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin) Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, gdzie pracuje do chwili obecnej.

Habilitantka odbyła dwie wizyty naukowe: tygodniową w Laboratory of Flow Cytometry Academy of Science w Pruchonicach w Czechach w 2010 roku i dwutygodniową, a w Belgii w Institute of Agricultural and Fisheries Research, Plant Science Unit: Applied Genetic and Breeding w Melle w 2013 roku.

Ocena załączonego do dorobku naukowego osiągnięcia naukowego w postaci monotematycznego cyklu publikacji pt. „Wykorzystanie naturalnych źródeł odporności pochodzących od dzikich gatunków *Nicotiana* w hodowli tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) odpornego na choroby grzybowe i wirusowe” (art. 219 ust. 1 p. 2b Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018r. (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.)

Prezentowane osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo jest wynikiem badań zaprezentowanych w cyklu pięciu publikacji wieloautorskich i jednej jednoautorskiej opublikowanych w latach 2007-2020 w znaczących czasopiśmie naukowych, o łącznej liczbie punktów 155 wg punktacji MNiSW z IF wynoszącym 7,346 (wg

moich obliczeń – 7,505). Zamieszczone zostało ono w autoreferacie na 18 stronach maszynopisu pt. „4. Omówienie osiągnięć naukowych, o których mowa art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.). Deklarowany wkład pracy Habilitantki w opracowaniach współautorskich wynosi 50-90%, co pokrywa się z zakresem i udziałem prac przedstawionych w oświadczeniach Habilitantki i współautorów. Jednakże moje wątpliwości budzi wysoki udział Kandydatki w ich opracowaniu (szczególnie w publikacji I.2.4), której nazwisko znajduje się na ostatnim miejscu na 6-autorskiej liście współautorów. Udział Habilitantki w we współautorskich, oryginalnych publikacjach polegał m.in. na udziale w planowaniu koncepcji badań, wykonaniu krzyżowań międzygatunkowych, analizach cytologicznych i cytogenetycznych (GISH) mieszańców F₁, amfidiploidów i seskwidiploidów, poliploidyzacji genomów, wykonaniu dokumentacji fotograficznej, ocenie odporności na *Th. basicola*, selekcji linii hodowlanych łączących odporność na *Th. basicola* i TSWV przy użyciu markerów SCAR i metody PCR, udziłu w indukcji haploidów i podwojonych haploidów *in vitro*, ocenie stopnia ploidalności z zastosowaniem cytometru przepływowego, planowaniu lub wykonaniu doświadczeń polowych, interpretacji wyników, wykonaniu analizy statystycznej, opracowaniu tekstu pracy do druku oraz wypełnianiu funkcji autora korespondencyjnego.

Metodyka wykonanych prac jest prawidłowa i są one starannie wydane pod względem edytorskim. Wyniki badań są szczegółowo analizowane i dyskutowane, zarówno na tle bieżącej literatury krajowej, jak i zagranicznej, stąd wartość zaprezentowanych w powyższym cyklu publikacji w mojej ocenie jest wysoka. Podstawą tej oceny jest także poziom naukowy i potrzeba badań dotyczących hodowli odmian tytoniu odpornych na często pojawiające się w klimacie miarkowanym i powodujące ogromne straty finansowe choroby, takie jak: *Thielaviopsis basicola* czy przenieszonego przez wciornastka tytoniowca wirusa brązowej plamistości pomidora na tytoniu. Badania tego typu mają duże znaczenie, gdyż tytoń odgrywa znaczną rolę gospodarczą w Polsce i w wielu krajach na świecie, bowiem stanowi ważny produkt eksportowy, źródło dochodu oraz formę utrzymania dla wielu gospodarstw rodzinnych (szczególnie ulokowanych na glebach słabszych i w rejonach, gdzie trudno znaleźć pracę bądź przestawić się na produkcję alternatywną – woj. podkarpackie, małopolskie czy lubelskie). Roczna produkcja tytoniu przemysłowego w Polsce wynosi ok. 32,5 tys. ton, co stanowi 0,5% udziału w produkcji światowej, a nasz rynek tytoniowy jest jednym z największych w Europie. Obecnie w Polsce wytwarza się 175 mld sztuk papierosów i 27 tys. ton innych wyrobów tytoniowych, co daje Polsce drugie miejsce w Europie. Coroczne wpływy podatkowe z produkcji i konsumpcji wyrobów tytoniowych sięgają 24,4 mld zł (w tym akcyza – 18,5 mld zł), stanowiąc niemal 9% ogółu dochodów podatkowych państwa. Z branżą tytoniową powiązanych jest 560 tys. miejsc pracy (z tego ok. 50 tys. osób zatrudnionych jest przy uprawie tytoniu, a dalszych 10 tys. przy produkcji wyrobów tytoniowych, zaś resztę stanowią osoby pracujące w handlu). Warto zaznaczyć, że tytoń to nie tylko roślina, która może potencjalnie szkodzić człowiekowi, ale też jest rośliną modelową wykorzystywaną w badaniach molekularnych i zielonym bioreaktorem, z którego można wyprodukować duże ilości rekombinowanych białek i biofarmaceutyków znajdujących zastosowanie w medycynie, farmacji, przemyśle i ochronie środowiska.

W tym kontekście podjęte przez dr Annę Trojak-Goluch badania nad hodowlą odpornością tytoniu mają ogromne znaczenie, tak z naukowego, jak i poznawczego punktu widzenia.

Mimo ogromnego znaczenia tego typu badań, w dostępnym piśmiennictwie brakuje publikacji na temat możliwości otrzymywania odmian tytoniu szlachetnego odpornych na groźne choroby tj. czarną zgniliznę korzeni oraz TSWV otrzymywanych na bazie dzikich gatunków z rodzaju *Nicotiana* (m.in. *N. debneyi* lub *N. glauca*). Należy w tym miejscu podkreślić, że stosowane dotychczas metody chemicznego zwalczania *Th. basicola*, czy roznoszącego wirus TSWV powodujący tzw. „chorobę lubelską” wciornastka tytoniowca (*Thrips tabaci*) nie są skuteczne, dzięki czemu niekiedy dochodzi do drastycznej obniżki plonowania, obniżenia jakości surowca a nawet zniszczenia plantacji i dodatkowo do zanieczyszczenia środowiska. Jak dotąd podejmowano próby wprowadzenia do genomu *N. tabacum* odporności m.in. na wirusa mozaiki tytoniu (TMV) korzystając z *N. glutinosa*, mączniaka rzekomego tytoniu i czarną zgniliznę korzeni z *N. debneyi*, zgniliznę korzeni powodowaną przez *Ph. nicotianea* z *N. plumbaginifolia* lub *N. longiflora*, PVY z *N. raimondii* lub *N. africana* oraz wirusa TSWV z *N. alata*. W przypadku odporności typu *debneyi* opracowano nawet szereg nowych odmian tytoniu typ Burley: Burley 49, KY 17, TN 90, TN 86.

Uzupełnieniem tej wiedzy poznawczo-praktycznej zajęła się w swoim osiągnięciu naukowym dr Anna Trojak-Goluch zakładając, że możliwe jest otrzymanie genetycznie odpornych na patogeny grzybowe i wirusowe odmian tytoniu typ Virginia o korzystnych cechach jakościowych surowca i zadowalającym poziomie plonowania. Introgresja genów odporności od dzikich odmian tytoniu wiąże się bowiem z wieloma problemami m.in. obniżoną żywotnością siewek mieszańców a także wprowadzeniem niepożądanych cech jakościowych liści. Stąd kompleksowe dzieło jakiego podjęła się Habilitantka stanowi istotny wkład w rozwój innowacyjnych sposobów zwalczania chorób tytoniu.

W początkowym etapie badań Habilitantka starała się poznać możliwość wprowadzenia genów z pokrewnych gatunków *Nicotiana* przy wykorzystaniu metod cytologicznych oraz genomowej hybrydyzacji *in situ*. Badania nad wprowadzeniem odporności na czarną zgniliznę korzeni prowadzone były przy wykorzystaniu dzikiego gatunku *N. glauca*, traktowanego jako źródło genetycznej odporności na tego patogena oraz popularnej w uprawie polowej w naszym kraju odmiany należącej do typu Virginia - 'Wiślica' 1 (**publikacja I.2.1**). Ocenie poddano otrzymane w wyniku krzyżowania rośliny F₁ T'TG – amfidiploidy, potraktowane r-rem kolchicyny oraz seskwidiploidy otrzymane podczas krzyżowania wstecznego amfidiploidów z odmianą „Wiślica”. Określono m.in. osobniki pokoleń mieszańcowych pod kątem liczby chromosomów mitotycznych w komórkach, przebieg procesu mikrosporogenezy w pylnikach oraz oceniono żywotność pyłku testem barwienia acetokarminem. Przeprowadzona analiza cytologiczna wg. Burns (1982) pokazała, że podczas bezpośredniego krzyżowania tytoniu szlachetnego 'Wiślica' z *N. glauca* pokolenie potomne charakteryzowało się dobrą żywotnością, osobniki posiadały 36 chromosomów o charakterze amfidiploidalnym (2n=6x=72). Obserwacje mikrosporogenezy wykazały, że prawdopodobnym mechanizmem introgresji było włączanie odcinka obcego chromosomu do genomu *N. tabacum*, a wszystkie powstałe ziarna pyłku były nieżywotne. Aby przywrócić płodność mieszańcom F₁ przeprowadzono poliploidyzację genomów poprzez

kolchicynowanie siewek. Analiza cytologiczna otrzymanych w ten sposób roślin wykazała, że spośród 36 żywotnych roślin, 15 było amfidiploidami ($2n=6x=72$), 9 - stanowiły aneuploidy ($2n=6x=70$ lub 71) i 12 - amfihaploidy ($2n=3x=36$). Amfidiploidy, mimo dość wysokiego parowania chromosomów w czasie mejozy, różniły się płodnością pyłku, która wahała się od 0 do 85%. Zaburzenia płodności męskiej nie korelowały ze stopniem płodności żeńskiej po zapyleniu *N. tabacum*. Podobnie jak we wcześniejszym etapie, również podwojenie liczby chromosomów powodowało asynaptyczny przebieg mejozy i w większości komórek poza 32-36 biwalentami notowano obecność 1-6 uniwalentów, a nawet 1-2 triwalenty i tetrawalenty, co świadczy o aberracjach chromosomowych. Krzyżowanie wsteczne amfidiploidów z *N. tabacum* umożliwiło otrzymanie pokolenia BC₁ seskwidiploidów z 60 chromosomami $2n=5x=60$ w komórkach somatycznych. U seskwidiploidów, charakteryzujących się żywotnością pyłku na poziomie 2,5-31,5%, obserwowano występowanie ponad 22 biwalentów, 10-12 uniwalentów i sporadycznie multiwalenty, co wskazywało na możliwość występowania translokacji pomiędzy genomami *N. tabacum* i *N. glauca*.

W przypadku badań nad introgresją odporności na mączniaka rzekomego tytoniu *Peronospora hyoscyami* f. sp. *tabacina* Habilitantka skorzystała z kolejnego dzikiego krewniaka *N. wuttkei* jako źródła odporności dla tytoniu szlachetnego (**publikacja I.2.4**). Badania przeprowadzono przy użyciu regeneracji liścieni *in vitro* populacji (R₁) amfidiploidów ($2n=8x=80$; WWW'W'TTT'T') oraz jej potomstwa (R₂-R₄) otrzymanego w rezultacie samozapylenia. W eksperymencie oceniono nie tylko liczbę torebek nasiennych i nasion w torebce oraz zdolność kiełkowania nasion, ale też przebieg mejozy w komórkach macierzystych pyłku i za pomocą genomowej hybrydyzacji *in situ* (GISH) – liczby chromosomów i kompozycji genomowej mieszańców. Po zapyleniu 36,8% zapylnych kwiatów wydało torebki, w których znajdowało się średnio 26,4 nasion. Zdolność kiełkowania nasion wynosiła 23,1%, przeżywalność siewek 92,3% i w R₂ otrzymano 416 roślin. Zarówno liczba nasion w torebce, jak i zdolność kiełkowania zwiększyły się ponad 2-krotnie, przy praktycznie takiej samej przeżywalności siewek (91,9 i 92,2%) w pokoleniach R₃ i R₄. W konsekwencji liczba przeżywających roślin potomnych wzrosła do 2565 i 3666 odpowiednio w R₃ i R₄. Kandydatka wraz z zespołem potwierdziła występowanie translokacji międzygatunkowych w mieszańcach (2 – w amfidiploidach pokolenia R₄), przy czym regiony, w których zaszły rekombinacje znajdowały się na jednym ramieniu chromosomów. Wykazała, że amfidiploidy R₁-R₄ tworzyły normalne komórki macierzyste pyłku, zaś przebieg mejozy również był normalny. Obserwowano występowanie 40 biwalentów, a niekiedy uniwalenty oraz triwalenty i tetrawalenty, co świadczy o występowaniu translokacji pomiędzy genomami. W kolejnych pokoleniach notowano tendencję do zwiększania średniej liczby biwalentów z 36,95 w pokoleniu R₁ do 38,71 w pokoleniu R₄ oraz zmniejszenie średniej liczby triwalentów i tetrawalentów. Wynikało to prawdopodobnie z różnic strukturalnych pomiędzy genomami *N. wuttkei* i tytoniem szlachetnym i preferencyjnej koniugacji chromosomów tych gatunków, która ograniczała częstotliwość abberacji chromosomowych w kolejnych pokoleniach z samozapylenia. Wydaje się, że prawdopodobnym mechanizmem introgresji międzygatunkowej są translokacje powstające poprzez pęknięcie chromosomów i przeniesienie ich segmentów do innych chromosomów. W dalszych stadiach mejozy notowano bowiem zaburzenia podziałów i tworzenie niezredukowanych jąder restytucyjnych i mikrocyt w postaci triad i pentad. Obserwowane nieregularności powodowały w kolejnych

pokoleniach zwiększenie liczby żywotnych ziaren pyłku i liczby zawiązanych nasion a w konsekwencji liczby żywotnych roślin. Szkoda jednakże, że nie przeprowadzono analiz odporności otrzymanego potomstwa na mączniaka rzekomego tytoniu. Należy jednakże podkreślić, że uzyskanie jednoznacznych wyników nie byłoby możliwe bez mobilności i współpracy Habilitantki z zespołem dr K. Van Laere i mgr I. Kirov z Plant Science Unit, Applied Genetics and Breeding ILVO w Belgii.

Kolejny etap badań polegał na poznaniu możliwości użycia plazmy zarodkowej gatunku *N. glauca* podczas hodowli odmian odpornych na czarną zgniliznę korzeni i określeniu cech jakościowych w ten sposób otrzymanych mieszańców (**publikacja 1.2.2**). Stanowiły one kontynuację doświadczeń opisanych w pracy 1.2.1. Habilitantka przeprowadziła krzyżowanie wsteczne seskwidiploidów *N. tabacum* 'Wiślica' x *N. glauca* do *N. tabacum* i selekcję odmian odpornych na *Th. basicola* metodą inokulacji w szklarni w kolejnych pokoleniach z zastosowaniem samozapylenia. W wyniku tego otrzymano linie hodowlane WGL pokolenia BC₂F₅- BC₂F₇, z których 10. wykazywało odporność względem badanego patogena. W dalszym etapie badań Habilitantka zdecydowała się sprawdzić jak przeniesienie genów odporności wpływa na wzrost, rozwój i cechy jakościowe liści, co jest niezwykle ważne z punktu widzenia praktyki rolniczej. W tym celu w trzyletnim doświadczeniu polowym wykonanym w latach 2006-2008 porównała je z cechami roślin rodzicielskiej odmiany 'Wiślica'. Okazało się, że pokrój roślin, kształt liści i ich sposób osadzenia na łodydze w wyodrębnionych liniach hodowlanych WGL1 – WGL10 był podobny do notowanych u odmiany 'Wiślica'. Rośliny były nieco większe od odmiany rodzicielskiej, a 6. z nich tworzyło liście istotnie szersze i dłuższe, o większej powierzchni użytecznych liści środkowych, masie i treściwości niż 'Wiślica'. Trzy spośród analizowanych linii hodowlanych (WGL1, WGL5 i WGL7) cechowały się istotnie dłuższą fazą wegetatywną i kwitły do półtora tygodnia później niż 'Wiślica'. Jeśli chodzi o parametry chemiczne liści to nie zanotowano istotnych różnic w zawartości azotu całkowitego (1,8-2,3%), nikotyny (1,2-1,4%) i węglowodanów (22-27%) w stosunku do odmiany rodzicielskiej. W dalszej kolejności Kandydatka wybrała jedną linię - WGL3 (WGLB), posiadającą najlepsze cechy jakościowe jednocześnie z wprowadzonym genem odporności do otrzymania pierwszej na świecie odmiany tytoniu typ Virginia z odpornością typu *glauca* – 'Wigola'. Została ona wpisana do księgi ochrony wyłącznego prawa i cieszy się popularnością wśród plantatorów tytoniu w naszym kraju. W mojej ocenie jest to niezwykle ważne osiągnięcie Habilitantki, gdzie z powodzeniem połączyła ona odporność na jednego z poważnych patogenów grzybowych atakujących plantacje tytoniu z uzyskaniem stabilnego plonowania i doskonałej jakości surowca tytoniu, stanowiące znaczny wkład w rozwój światowego i krajowego tytoniarstwa i rolnictwa.

Kolejne prowadzone przez dr Annę Trojak-Goluch badania dotyczyły poznania możliwości jednoczesnego wprowadzenia do genomu tytoniu szlachetnego odporności na czarną zgniliznę korzeni oraz wirusa brązowej plamistości pomidora TSWV przy zastosowaniu najnowocześniejszych technik hodowlanych (**publikacja 1.2.3**). Bazą do prac hodowlanych była wcześniej otrzymana linia WGL3 z odpornością na *Th. basicola* typu *glauca* oraz linia PW834 z odpornością na TSWV typu *alata* (wyprowadzona z polskiej odmiany 'Polalta'). Mieszańce F₁ poddano szklarniowym testom odpornościowym na *Th. basicola* oraz mechanicznej inokulacji liści filtrem pochodzącym z porażonych plantacji

polowych oraz porównano z formami rodzicielskimi oraz odmianami 'Wiślica' i 'Polalta' i 'K326'. Okazało się, że testy DAS-ELISA z użyciem przeciwciał poliklonalnych TSWV i obserwacje mikroskopowe korzeni wykazały pełną odporność mieszańców, zarówno na wirusa TSWV, jak i *Th. basicola*. Należy wspomnieć, że mieszańce wykazywały pewne deformacje, takie jak zgrubienia żył i czasami nieregularne żyłkowanie.

W dalszej kolejności przeprowadzono androgenezę w kulturach pylnikowych uzyskanych z roślin mieszańcowych F₁ w celu wyhodowania haploidów łączących odporność na *Th. basicola* i TSWV. Analiza cytometryczna wykazała obecność 242 haploidów i 2 spontanicznych diploidów wśród regenerantów. Wszystkie haploidy zostały sklonowane, a następnie ocenione pod kątem odporności na czarną zgnilizną korzeni i TSWV. Ocena mikroskopowa wykazała, że 132 haploidy nie wykazywały objawów *Th. basicola*, co w połączeniu z brakiem objawów u mieszańców F₁ wskazywało na dominujący, jednogenowy sposób dziedziczenia. Jednocześnie tylko 30 haploidów wykazało odporność na TSWV (potwierdzoną przy zastosowaniu markerów SCAR). Stosunek roślin odpornych do podatnych wynosił 1:7,06. Uzyskane wyniki wskazują, że niewielki udział haploidów odpornych na TSWV był prawdopodobnie spowodowany obniżeniem żywotności gametofitów męskich zawierających czynnik odporności od *N. alata*. Łącznie 24 haploidy wykazały jednoczesną odporność na *Th. basicola* i TSWV i mogą stanowić materiał do wyhodowania nowych odpornych odmian uprawnych tytoniu.

W kolejnym opracowaniu przedstawionym do oceny (**publikacja 1.2.6**) jako składowa osiągnięcia Kandydatka pogłębiła badania przedstawione w pracy wcześniejszej, próbując wyselekcjonować linie tytoniu z dwoma typami odporności (typu *glauca* i *alata*) a jednocześnie posiadające prawidłową morfologię i cechy użytkowe. Przebadła haploidy uzyskane z kultur *in vitro* pylników dwukierunkowych mieszańców F₁ (BPA i WGL3, WABPA3 i WGL3, PW834 i WGL3), linii hodowlanych (PW834 i WGL3) oraz odmiany 'Wiślica', starając się określić efektywność regeneracji pędów w wyniku organogenezy pośredniej z fragmentów walca osiowego łodygi haploidów, a następnie stopień ploidalności uzyskanych roślin za pomocą cytometru przepływowego. Efektywność regeneracji wyrażona liczbą pędów na eksplantat była zróżnicowana i zależała od pochodzenia haploidów (kierunku krzyżowania form rodzicielskich mieszańców F₁). Najmniej zregenerowanych pędów (śr. 2,8/eksplantat) uzyskano z linii hodowlanej PW834. Przyczyną słabych zdolności organogenetycznych była prawdopodobnie obecność w genomie PW834 materiału genetycznego pochodzącego od *N. alata* lub niezgodności pomiędzy genomem jądrowym i cytoplazmatycznym form rodzicielskich. Największą zaś liczbą zregenerowanych pędów (śr. 13,8 i 10,2/ekspl.) charakteryzowały się pozyskane z haploidów mieszańca WGL3 × BPA oraz 'Wiślicy'. Otrzymane pędy odcinano, ukorzeniano, a następnie uzyskane rośliny aklimatyzowano do warunków szklarniowych. Zregenerowane rośliny bardzo dobrze adaptowały się do warunków *in vivo*. Ogółem otrzymano 994 osobniki, których stopień ploidalności oceniano za pomocą cytometru przepływowego.

Ocena cytometryczna zregenerowanych roślin wykazała, że w zależności od kombinacji mieszańcowej tytoniu od 59,84 do 89,39% osobników pozostało haploidami, podczas gdy od 10,61 do 32,99% regenerantów było podwojonymi haploidami. Występowała też niewielka liczba poliploidów. Najlepszym donorem eksplantatów do indukcji podwojonych haploidów i poliploidów *in vitro* okazał się mieszaniec WGL3 × WABPA3.

Liczba uzyskanych linii DH była istotnie większa od uzyskanej dla kombinacji mieszańcowej BPA × WGL3 i linii PW834. Empiryczne określenie korzystnego kierunku krzyżowania komponentów rodzicielskich ułatwia uzyskiwanie znacznej liczby linii DH z haploidów mieszańców F₁ tytoniu, zwłaszcza tych zawierających geny dzikich gatunków, takich jak: *N. africana*, *N. glauca* i *N. alata*.

Ostatni etap badań (**publikacja 1.2.5**) dotyczył selekcji osobników podwojonych haploidów DH tytoniu posiadających cechy odporności na TSWV i *Th. basicola* a zarazem korzystne cechy morfologiczne i użytkowe. Materiał badawczy stanowiły uzyskane wcześniej podwojone haploidy mieszańców F₁ linii tytoniu *flue cured* WGL3 odpornej na *Th. basicola* i tytoniu ciemnego PW-834 wnoszącego gen *RTSW-al*. W celu potwierdzenia odporności DH zastosowano testy biologiczne oraz markery SCAR związane z TSWV, które wykazały wysoką efektywność wprowadzonych genów odporności.

Badane linie DHR₁ charakteryzowały się mniejszym stopniem deformacji morfologicznych (zgrubiałych, nieregularnych nerwów czy guzów na kwiatostanach) niż linia ojcowska PW832 i odmiana 'Polalta'. Większość DH była istotnie niższa od form rodzicielskich, ale dwie linie, 31/A/2 i 31/B/3, były zbliżone do odmiany WGL3 tytoniu typ Virginia. Zazwyczaj DH posiadały mniej liści, lecz jedna z nich - 31/B/3, przewyższała formy rodzicielskie. Podwojone haploidy zakwitwały później niż ich linie rodzicielskie. Najbardziej niekorzystnym efektem było zmniejszenie powierzchni liści środkowych DH, co można tłumaczyć rekombinacją podczas mikrosporogenezy w F₁, jednak nie można wykluczyć możliwości negatywnego wpływu genu *RTSW-al* pochodzącego z odmiany 'Polalta'. Stwierdzono, że zmienność między liniami odnośnie zawartości nikotyny i węglowodanów nie była związana z genami odporności na TSWV i *Th. basicola*. Zależała prawdopodobnie od użytych form rodzicielskich (WGL3 o niskiej dla tytoni jasnych zawartości nikotyny i wysokiej węglowodanów oraz PW834 o charakterystycznej dla tytoni ciemnych, niemal dwukrotnie wyższej zawartości badanego alkaloidu i niskiej węglowodanów). Testy biologiczne i polowe DH wykazały możliwość przezwyciężenia negatywnego efektu sprzężenia pomiędzy genem *RSTV-al* a genami odpowiedzialnymi za deformacje morfologiczne, dzięki czemu linie te stanowią materiał wyjściowy do hodowli nowych odpornych mieszańcowych odmian tytoniu.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że Habilitantka przeprowadzała nie tylko prace hodowlane starając się poznać efekty wykonanych krzyżowań przy użyciu dzikich gatunków *N. glauca*, *N. alata* i *N. wuttkei*, ale i badania polowe starając się poznać różnice w plonowaniu i wartości użytkowej uzyskiwanych mieszańców. Tak więc badania posiadały nie tylko aspekt naukowy, ale prowadziły do konkretnych zastosowań otrzymanych linii lub odmian w praktyce (m.in. w przypadku odmiany 'Wigola' wdrożonej do uprawy w Polsce). Zatem były to wszechstronne badania mające zarówno aspekt poznawczy, jak i praktyczny, bowiem ich efekty można bezpośrednio wdrożyć w praktyce podczas hodowli nowych odpornych odmian tytoniu (szczególnie łączących odporność na ważne gospodarczo patogeny i posiadające cechy tytoniu papierosowego jasnego typ Virginia).

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiony do oceny monotematyczny cykl 6-letni oryginalnych prac twórczych pt. „Wykorzystanie naturalnych źródeł odporności pochodzących od dzikich gatunków *Nicotiana* w hodowli tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.)

odpornego na choroby grzybowe i wirusowe” spełnia wymagania stawiane tego typu osiągnięciom naukowym, w tym:

- poprawnie metodycznie zaplanowane i wykonane eksperymenty naukowe,
- właściwa interpretacja i dyskusja wyników,
- wymóg oryginalności wyników,
- znaczny wkład Autorki w rozwój dyscypliny naukowej rolnictwo i ogrodnictwo a poprzez to spełnia wymóg formalny określony w art. 219 ust. 1 p. 2 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018r. (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

Ocena aktywności naukowej Habilitantki realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej w szczególności zagranicznej (zgodnie z art. 219 ust. 1 p. 3 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018r. (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

Ocena formalna

Według informacji podanych w załączonych materiałach dr Anna Trojak-Goluch w okresie przed doktoratem opublikowała 1. oryginalną pracę twórczą, opracowała 2 raporty oraz wygłosiła referat i zaprezentowała 2 opracowania na konferencjach międzynarodowych. Natomiast w latach 2001–2020, a więc po doktoracie –18 oryginalnych (recenzowanych) prac naukowych (poza osiągnięciem) w tym 4 rozdziały w monografii a także opublikowała 8 publikacji nierecenzowanych, wygłosiła 32 referaty i zaprezentowała 38 kolejnych opracowań na konferencjach i seminariach krajowych oraz międzynarodowych, 19 raportów i sprawozdań, 42 ekspertyzy, 2 materiały szkoleniowe oraz 3 prace popularno-naukowe. Jest to znaczący wzrost w stosunku do dorobku uzyskanego przed doktoratem.

Spośród 27. oryginalnych publikacji (poza osiągnięciem) w 3. jest jedynym autorem, w dziewiętnastu (70,4%) figuruje na pierwszym miejscu jako pomysłodawca i realizator badań, opracowujący zebrane materiały do druku (z deklarowanym współudziałem w powstawaniu pracy do druku na poziomie 20-90%). W kolejnych opracowaniach na liście współautorów wymieniona jest na dalszych pozycjach i jak podaje Habilitantka, Jej wkład własny polegał m.in. na: opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu dokumentacji fotograficznej, udziale w analizie statystycznej zebranych wyników, współudziale w przygotowywaniu pracy do druku, czy też pełnieniu zadań autora korespondencyjnego i wahał się od 5 do 50%. Zatem w każdej ze wspomnianych publikacji Pani dr Anna Trojak-Goluch miała istotny udział – w większości przypadków polegający na m.in. uczestnictwie w opracowaniu koncepcji badań, założeń metodycznych, współtworzeniu omówienia wyników i/lub współprzygotowaniu/korekcie manuskryptu – są to w mojej ocenie najważniejsze etapy decydujące o poziomie publikacji, gdyż w największym stopniu wiążą się z procesem twórczym.

Dorobek publikacyjny Habilitantki w okresie po doktoracie wzbogacają zamieszczone komunikaty z konferencji międzynarodowych i o zasięgu krajowym (łącznie 40) oraz ekspertyzy wykonane na zamówienie MRiRW (7) oraz przedsiębiorców (35).

Ważnym elementem oceny formalnej dorobku naukowego dr Anny Trojak-Goluch jest struktura Jej publikacji. Habilitantka publikowała swoje oryginalne prace w 14

czasopismach naukowych, w tym w 8 z tzw. listy filadelfijskiej, mających impact factor (IF). Rozdział Jej prac w ujęciu ilościowym w poszczególnych czasopismach prezentuje się następująco:

A. Czasopisma znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR), mające IF:

- Journal of Applied Genetics (6 pkt MNiSW, IF=0,191) – 1 praca,
- Plant Breeding (20 – 25 pkt. MNiSW, IF = 0,987 – 1,092 – 1,596) – 3 prace,
- Journal of Food Agriculture and Environment (15 pkt. MNiSW, IF = 0,523) – 1 praca,
- Breeding Science (30 pkt. MNiSW, IF = 1,865 – 1,97 – 2,221 i 70 pkt MNiSW, IF=1,743) – 4 prace,
- In Vitro* Cellular and Developmental Biology – Plant (20 pkt. MNiSW, IF = 1,621) – 1 praca,
- Indian Journal of Genetics and Plant Breeding (15 pkt. MNiSW, IF = 0,211) – 1 praca,
- Czech Journal of Genetics and Plant Breeding (20 pkt. MNiSW, IF = 0,652) – 1 praca,
- Euphytica (30 pkt. MNiSW, IF = 1,826) – 1 praca,

B. Publikacje naukowe – bez IF:

Polish Journal of Agronomy – 3 prace, Progress in Plant Protection - 2 prace, Agronomy Science – 1 praca, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych – 1 praca i Acta Biochimica Polonica – 2 prace, Acta Biologica Cracoviensia – 2 prace, Biuletyn IHAR – 3 prace.

Należy podkreślić, że dodatkowo Habilitantka jest jednym z dwóch autorów wyłącznego prawa do siedmiu odmian tytoniu typ Virginia i Burley ('Wentura', 'Wirgo', 'VRG2', 'TNSB1', 'VGR 5TL', 'Wigola' i 'Amera'), a swój udział w uzyskaniu tych odmian szacuje na 7-88%. Zgodnie z obowiązującą w roku przyznania wyłącznego prawa punktacją wg Rozporządzenia MNiSW liczba punktów za ich uzyskanie wynosi 130. Zgodnie natomiast z zasadami ewaluacji jednostek (Rozporządzenie MNiSW z dnia 31 lipca 2020 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej Dz. U. 2020 poz. 1352) za osiągnięcie naukowe w postaci przyznania wyłącznego prawa hodowcy do odmiany rośliny przyznanego temu podmiotowi przez COBORU ewaluowanemu podmiotowi przyznaje się 50 pkt. Zatem za współudział w uzyskaniu wyłącznego prawa do siedmiu odmian tytoniu należałoby dr Annie Trojak-Goluch dodać 350 pkt.

Ocena merytoryczna

Dorobek dr Trojak-Goluch jest wyraźnie wyprofilowany i skupiony wokół zagadnień związanych z hodowlą odpornością tytoniu. Podejmowana przez nią tematyka badawcza mieści się w nurcie najnowocześniejszych, najbardziej obiecujących dla uprawy i ochrony tytoniu zagadnień, mających znaczenie poznawcze, jak i aplikacyjne. Chciałabym podkreślić, że dr Anna Trojuk-Goluch jest rozpoznawalnym i cenionym w Polsce i Europie ekspertem w zakresie uprawy i hodowli odpornościowej roślin specjalnych, a Jej publikacje mają uznaną pozycję w środowisku naukowym

Od początku kariery w głównym nurcie zainteresowań Kandydatki znajdowały się problemy introgresji odporności na czarną zgniliznę korzeni typu *debneyi*, które miały swoje odzwierciedlenie również jako składowa część osiągnięcia. Początkowo Kandydatka starała się wybrać materiał genetyczny charakteryzujący się najlepszymi cechami użytkowymi roślin,

bowiem ten typ odporności skorelowany jest z niekorzystnymi cechami morfologicznymi i jakościowymi roślin tytoniu (3 publikacje, postery). Jako źródła odporności zastosowała m.in. kanadyjską odmianę 'AC Gayed', którą skrzyżowano z odmianą 'Wiślica', odporną na większość szczepów wirusa Y ziemniaka (PVY). Po krzyżowaniu i selekcji rodowodowej dokonano oceny odporności otrzymanych genotypów względem czynników chorobotwórczych i pod kątem ich wartości użytkowych. W wyniku badań otrzymano szereg linii hodowlanych odpornych na *Th. basicola* i PVY, które wraz z wytworzonymi liniami cytoplazmatycznie męskosterylnymi użyte zostały do otrzymania 5. mieszańcowych odmian tytoniu jasnego typ Virginia ('Wentura', 'Wirgo', 'VRG2', 'Wigola', 'Amera'), które obecnie znalazły się w wykazie odmian COBORU i są uprawiane w Polsce. Oprócz tego, Kandydatka włączona została również do badań nad otrzymaniem odmian tytoniu będących mieszańcami trójliniowymi o szybkim wzroście, wysokich plonach i niskiej podatności na plamistości liści pochodzenia bakteryjnego ('TNSB1' i 'VRG 5TL'). Z powyższego zakresu badań opublikowano szereg raportów z badań, rozdział w monografii, 2 publikacje oraz kilka posterów i referatów na konferencjach, jak też wygłoszono szereg wykładów promujących. Otrzymane przy udziale Habilitantki odmiany cieszą się popularnością wśród plantatorów tytoniu, a Jej działalność naukowa w tym zakresie została dostrzeżona i doceniona przyznaniem w 2012 roku Nagrody Zespołowej I° Dyrektora IUNG-PIB oraz nagrody Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi za wybitne krajowe osiągnięcie pt. "Wychodzenie i wdrożenie do produkcji odmian mieszańcowych tytoniu Virginia odpornych na czarną zgniliznę korzeni".

Kolejne badania dotyczące tytoniu dotyczyły zbadania możliwości wprowadzenia do jego genotypu odporności na wirus mozaiki tytoniowej TMV (publikacja II.2.A.7). *Tobacco mosaic virus* to kolejna przyczyna sięgających 1/3 obniżek w plonowaniu tytoniu na plantacjach produkcyjnych. Habilitantka w swoich dociekaniach starała się znaleźć nowe źródło odporności sześciu typów użytkowych tytoniu. Do oceny odporności tytoniu użyto testów biologicznych inokulując je w dwóch zakresach temperatury. Obserwowano 4 typy reakcji roślin: podatność, tolerancję, nadwrażliwość i systemiczną nadwrażliwość. Odporność typu nadwrażliwości zależała od występowania genu *N* i widoczna była wyłącznie w temperaturze poniżej 22°C. Szeroko zakrojone poszukiwania nowych źródeł odporności wskazały na dzikiego krewniaka tytoniu – *N. gossei*, u którego nadwrażliwość nie była warunkowana genem *N*, była trwała i nie zależała od temperatury. Wyniki badań Habilitantka opublikowała w formie artykułu, referatu, posteru, oraz raportów z badań.

W innych badaniach (publikacja II.2.B.7, referat, postery i raport z badań) starała się ocenić zawartość nikotyny oraz jej pochodnej powstającej wskutek oksydacyjnej N-demetylacji - normikotyny w liściach tytoniu jasnego typ Burley i Virginia. Kandydatka wykazała, że stopień konwersji nikotyny u Burleya jest wyższy niż u Virginii co wskazuje, że ten tytoń jest potencjalnie bardziej niebezpieczny dla palacza. Badania te mają znaczenie praktyczne, gdyż jakość liści można byłoby poprawić eliminując genotypy posiadające zdolność do demetylacji nikotyny w kolejnych pokoleniach otrzymywanych w wyniku samozapylenia.

Kolejne badania (publikacja II.2.A.3) poświęciła Kandydatka określeniu możliwości otrzymania linii tytoniu odpornych na wirusa Y ziemniaka (PVY). Obejmowały one krzyżowanie linii transgenicznych zawierających gen białka płaszczka wirusa mozaiki sałaty z

liniami posiadającymi gen polimerazy PVY oraz linii BPA zawierających odporność z *N. africana*. W ich wyniku otrzymano takie, które posiadały korzystne cechy użytkowe (większą liczbę liści o dużej powierzchni, mniejszym udziale nerwu oraz mniejszej zawartości azotu, białka i nikotyny a większej węglowodanów) połączone z odpornością na PVY, mogące stanowić potencjalne źródło odporności w hodowli nowych odmian tytoniu szlachetnego.

Niezmiernie istotnym kierunkiem eksploracji Habilitantki były te poświęcone ocenie możliwości wykorzystania chemicznych środków ochrony roślin tytoniu (publikacja II.2.B.4, II.1.2., raporty z badań, materiały z konferencji oraz publikacje popularno-naukowe). Eksperymenty dotyczyły m.in. możliwości niszczenia za pomocą metod chemicznych pasynek – nieużytecznych pędów bocznych wyrastających z kątów liści. Chemiczne ich zwalczanie za pomocą środków takich jak: Stomp 330 EC, Fazor 80 SG czy Antak 675 EC jest skuteczne i wiąże się z obniżeniem pracochłonności uprawy oraz polepszeniem jakości zbieranego surowca. Kolejny zakres badań dotyczył oceny skuteczności chwastobójczej preparatu Command 480 EC i popularnego herbicydu Stomp 330 EC. Okazało się, że preparaty te charakteryzowały się wysoką skutecznością (Stomp 330 EC - niemal 100%) w zwalczaniu typowych chwastów pojawiających się na plantacjach tytoniu i mimo nieznacznej fitotoksyczności mogą być zalecane do stosowania w praktyce rolniczej (publikacja II.2.B.3, raporty z badań).

Habilitantka przeanalizowała również możliwość zmniejszenia kosztów produkcji liści tytoniu i zwiększenia stopnia mechanizacji prac na plantacji (publikacja II.1.4). Na podstawie analiz finansowych doszła do wniosku, że stanowiący ok. 15-20% całkowitych kosztów uprawy, etap produkcji rozsady jest najtańszy przy zastosowaniu metody hydroponicznej a koszty produkcji sadzonek można dodatkowo obniżyć stosując następujące zabiegi: używając wysokiej jakości materiału nasiennego, wysiewając podkiełkowane nasiona pod osłonami i przepikowując je do tac wielokomorowych, usprawniając system grzewczy w rozsadnikach, wysadzając terminowo za pomocą sadzarek (np. czterosekcyjnych karuzelowych) wyprodukowaną rozsadę na pole. Na dalszych etapach możliwe jest wprowadzenie uproszczeń, czy też agregatowanie maszyn, precyzyjne dawkowanie nawozów oraz zastosowanie platform transportujących liście czy też użycie zautomatyzowanych suszarni kontenerowych. Na zlecenie firmy Universal Leaf Tobacco Poland sp z oo prowadziła badania dotyczące indukcji haploidów tytoniu metodą androgenyzy oraz prowadziła doświadczenia szklarniowe i laboratoryjne w hodowli nowych odmian tytoniu (które opublikowała, jak podaje, w 2 raportach z badań).

Kolejna problematyka podejmowana przez Kandydatkę związana jest z określeniem plonowania i jakości tytoniu jasnego w czterech głównych rejonach naszego kraju w zależności od warunków glebowo-klimatycznych. Trwające i prowadzone w ramach projektu „System monitoringu suszy rolniczej w Polsce” analizy mają na celu określenie wpływu stresu suszy na plony i jakość surowca tytoniu. Zaprezentowane były, jak podaje Habilitantka, w raportach z badań, na posterze oraz doniesieniu z konferencji.

Poza tytoniem w kręgu zainteresowań naukowych Habilitantki leży także kolejna roślina specjalna – chmiel zwyczajny. W swoich badaniach starała się Ona otrzymać triploidalne odmiany na bazie form tetraploidalnych form polskich odmian chmielu aromatycznego (6 publikacji, referaty, postery). Kandydatka stwierdziła, że indukcja tetraploidów zależy od odmiany (najlepsza u odmiany ‘Tunga’, najslabsza u ‘Sybilli’) oraz

czasu działania i stężenia kolchicyny. Wykazała również, że fragmenty łodyg chmielu posiadają większe zdolności organogenetyczne niż ogonki liściowe, określiła także w jakich warunkach powinna być prowadzona hodowla. Ocena polowa cech zewnętrznych oraz zawartości olejków i alfa-kwasów wykazała, że tetraploidalne linie chmielu charakteryzowały się istotnymi różnicami świadczących o wysokim potencjale plonowania i parametrów jakości surowca w stosunku do wyjściowej odmiany 'Sybilla' (publikacja II.2.A.4, referaty, postery).

Otrzymane w toku badań tetraploidalne formy odmiany 'Sybilla' krzyżowała z diploidalnymi osobnikami męskimi oraz oceniła stopień ploidalności mieszańców F₁ oraz weryfikację ich statusu cytologicznego. Analizy wykazały występowanie form euploidalnych (di-, tri- i tetraploidów) oraz aneuploidalnych (bez 1-2 lub z dodatkowymi 1-2 chromosomami). Wśród otrzymanych mieszańców przeważały rośliny żeńskie (2:1). Większość triploidów posiadała mniejszą liczbę nasion (1-3 szt.) w szyszkach, co jest bardzo pożądaną cechą przez przemysł browarniany (2 publikacje, referaty, materiały konferencyjne). Co więcej, Habilitantka wybrała genotypy o korzystnym składzie chemicznym (zawierające więcej alfa-kwasów) przewyższającym uprawną odmianę rodzicielską 'Sybilla', które w przyszłości po klonowaniu mogą zostać zgłoszone jako nowe odmiany do COBORU.

Jeśli chodzi o chmiel, to Habilitantka wzięła także udział w badaniach aplikacyjnych polegających na wyprodukowaniu materiału sadzonekowego wolnego od wirusów i wiroida utajonego HpLV przy użyciu metody regeneracji merystemów wierzchołkowych 6 odmian chmielu w warunkach *in vitro*. Jak podaje, w ich wyniku otrzymano 170 tys. wolnych od patogenów sadzonek, które wysadzono na 77 ha zainfekowanych plantacji w rejonie Wilkowa, wydatnie podnosząc w ten sposób i uzyskiwane plony szyszek i zawartość w nich alfa-kwasów i olejków. Poza tym brała udział w badaniach nad kompostowaniem odpadów przy produkcji chmielu przy pomocy bakterii (publikacja II.2.C.2, referat, poster).

Dodatkowo Habilitantka przeprowadziła na zlecenie Głównego Inspektora Ochrony Roślin i Nasiennictwa ocenę efektywności działania wybranych 11. fungicydów w uprawie roślin zbożowych (opisała je, jak podaje, w 26 raportach z badań). A od 2017 roku bierze udział w badaniach występowania chorób grzybowych i wirusowych na plantacjach kukurydzy w zależności od systemu uprawy. Wyniki badań prezentowała, jak podaje, w formie posterów i materiałów konferencyjnych.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że Habilitantka jest współautorką wyłącznego prawa do 7. odmian tytoniu. Należy nadmienić, że proces hodowli jest długotrwały i kosztowny, dlatego też tym cenniejsze są jego efekty, gdy przynosi wymierne korzyści plantatorom. Dlatego też bardzo wysoko oceniam dorobek dr Anny Trojak-Goluch w tym względzie.

Podsumowując należy stwierdzić, że wyprofilowany zakres tematyczny prowadzonych przez Habilitantkę badań oraz opanowanie warsztatu badawczego upoważnia do stwierdzenia, że można ją uznać za eksperta z zakresu uprawy oraz hodowli odpornościowej roślin specjalnych.

Wartość punktowa całego dorobku publikacyjnego Habilitantki obejmującego 116 pozycji, liczona zgodnie z obowiązującą punktacją MNiSW w roku wydania poszczególnych publikacji, jak podaje Kandydatka, wynosi 433 pkt; do tego należy dodać punkty za wyłączne prawo do 7. odmian tytoniu wg punktacji w roku przyznania (+130 pkt) co daje łącznie: 563 pkt. Zaś sumaryczny impact factor publikacji z listy Journal Citation Reports według

wyliczeń Habilitantki = 14,575, zaś wg moich wyliczeń na podstawie danych zamieszczonych na stronie Sci Journal IF = 15,525. Z kolei indeks Hirscha według bazy Web of Science w momencie złożenia dokumentów do oceny wynosił 4, zaś liczba cytowań według tej bazy = 66. Przedstawiony do oceny dorobek naukowy dr Annay Trojak-Goluch oceniam jako wartościowy pod względem naukowym, dobrze ukierunkowany i znacząco powiększony po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że Habilitantka uczestniczyła w realizacji 7 projektów badawczych i badawczo-rozwojowych (w tym 1. finansowanego w ramach 7 PR UE i 1 realizowanego na podstawie decyzji MRiRW), 10 tematów badawczych w ramach działalności statutowej IUNG-PIB, 3 zadań badawczych w Programach Wieloletnich IUNG-PIB. W 2 projektach pełniła funkcję kierownika, w kolejnych 2 – kieruje/wała zadaniem badawczym a w 3. była wykonawcą.

Mimo, że Kandydatka nie odbyła długoterminowego stażu naukowego w ośrodku krajowym lub zagranicznym, uczestniczyła w tygodniowej wizycie w Academy of Science w Pruchonicach w 2010 roku i dwutygodniowej wizycie w Belgii w Institute of Agricultural and Fisheries Research w 2013 roku oraz w wizycie studyjnej w 2019r. w PMP S.A. Neuchâtel w Szwajcarii.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że od początku swojej działalności naukowej starała się współpracować z innymi jednostkami naukowymi. Początkowo z Instytutem Nauk Rolniczych w Zamościu (od 2005r.), gdzie prowadziła badania nad odpornością otrzymanych linii hodowlanych tytoniu w warunkach polowych, czego wynikiem było wprowadzenie 2 nowych odmian: 'Wentura' i 'Wirgo'. W latach 2006-2007 prowadziła wspólne z pracownikami z Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie badania nad oceną skuteczności środków chemicznych w uprawie tytoniu, co zaowocowało wspólną publikacją (II.2.B.3) i raportami z badań. Nawiązała również współpracę z prof. Gerdem Weberem z University of Hohenheim podczas opracowywania projektu PROFICIENCY realizowanego w latach 2009-2012. W ramach tego projektu odbyła wizytę naukową w Laboratory of Flow Cytometry Academy of Science w Pruchonicach w Czechach, podczas której zapoznała się m.in. z metodą kalibracji cytometru przepływowego, co zaowocowało wspólną publikacją (II.8.A.1) oraz umiejętnościami potrzebnymi do opracowania kolejnych publikacji. W 2013 r. odbyła wizytę naukową w Institute of Agricultural and Fisheries Research, Plant Science Unit: Applied Genetic and Breeding w Melle (Belgia), podczas której praktycznie zapoznała się z metodą genomowej hybrydyzacji *in situ* (GISH), co zaprezentowała we wspólnej pracy stanowiącej część osiągnięcia naukowego (publikacja I.2.4). W kolejnym roku nawiązała współpracę z dr Jahad Soorni z Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University w Mazandaran w Iranie, polegającą na uzyskaniu linii odpornych na PVY, co zaowocowało następną wspólną publikacją (II.2.A.6).

Kandydatka prowadzi także współpracę ze znanymi światowymi firmami zajmującymi się uprawą i badaniami nad tytoniem – m.in. działem naukowym firmy Philip Morris Products S.A. Switzerland. Nawiązana w 2015r. współpraca zaowocowała złożeniem projektu IMBRENIC w ramach którego starano się zlokalizować introgresję od *N. alata* w genomie linii podwojonych haploidów tytoniu. W wyniku realizacji umowy wyselekcjonowano pierwsze na świecie linie hodowlane tytoniu bez deformacji morfologicznych, lecz z odpornością typu *alata*. Wynikiem tych badań były 2 publikacje

(II.2.C.8, II.2.C.9), kilka referatów, posterów i raportów z badań. Obecnie realizuje kolejną umowę z PMP S.A. Neuchâtel w Szwajcarii (projekt IMBRENIC-BIS), jak pisze, starając się otrzymać genotypy tytoniu odpowiadające wymaganiom praktyki rolniczej.

Dr Anna Trojak-Goluch przez wiele lat prowadzi wykłady i demonstracje dla studentów, uczniów szkół rolniczych, uczniów szkół podstawowych m.in. w ramach Dni Otwartych Drzwi IUNG-PIB i Lubelskiego Festiwalu Nauki (w sumie 172 godziny). Prowadzi także wykłady podczas studiów podyplomowych w IUNG-PIB. Sprawowała opiekę naukową nad stażystami i studentami odbywającymi praktyki w Instytucie. Prowadziła również wiele zajęć i referatów na spotkaniach z udziałem producentów tytoniu, pracowników ODR i przedstawicieli przemysłu. W jej dorobku znajdują się 3 prace popularno-naukowe, materiały szkoleniowe oraz komunikaty na stronie Platformy Sygnalizacji Agrofagów. Brała również udział w 17. szkoleniach i kursach na których zapoznała się z wieloma nowoczesnymi urządzeniami i technikami stosowanymi w badaniach roślin.

Dr Trojak-Goluch jest członkiem European Association Tobacco Research and Experimentation, w latach 2012-2013 była członkiem European Society for Agronomy, zaś w latach 2001-2019 – Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco (CORESTA) i uczestniczyła regularnie w kongresach i sympozjach prezentując wyniki swoich badań. Habilitantka jest członkiem Zespołu ds. Hodowli w Polsce, będącego organem pomocniczym przy MRiRW, brała także udział jako ekspert w spotkaniach dotyczących rejestracji środków ochrony roślin do zastosowań małoobszarowych.

Habilitantka uczestniczyła w 21 krajowych konferencjach naukowych oraz w 24 sympozjach i kongresach międzynarodowych (m.in. w Chinach, USA, Finlandii, Niemczech, Austrii) prezentując podczas nich 40 streszczeń posterów oraz wygłaszając 32 referaty. W latach 2007-2020 brała aktywny udział w organizacji 3 konferencji oraz warsztatów tytoniowych w ramach projektu ProFiCienCy z 7 Programu Ramowego UE.

W ramach działalności organizacyjnej na podkreślenie zasługuje duży udział Habilitantki w przygotowywaniu i realizację projektów badawczych. Bardzo wysoko oceniam zaangażowanie Habilitantki w przygotowanie i koordynację realizacji tych grantów, co świadczy o umiejętności perspektywicznego planowania własnego rozwoju naukowego mieszczącego się w ramach tematyki badawczej macierzystego Instytutu.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu oceny dorobku naukowego, w tym wyodrębnionego osiągnięcia naukowego w formie monotematycznego cyklu 6-iu publikacji oraz pozostałych osiągnięć w tym dydaktycznych i organizacyjnych dr Anny Beaty Trojak-Goluch stwierdzam, że:

□ Posiada Ona wyraźnie wyprofilowany dorobek naukowy, uzyskany głównie po ostatnim awansie naukowym, wystarczający do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego. Jej badania wniosły do literatury znaczący wkład w rozwój nauk rolniczych w zakresie dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo.

□ Osiągnięcie naukowe w postaci cyklu 6-iu monotematycznych publikacji pozwala na wymierną ocenę możliwości wprowadzenia genów odporności na najważniejsze

gospodarczo choroby pochodzenia grzybowego (*Th. basicola*, *Peronospora tabacina*) i wirusy (TSWV) do tytoniu szlachetnego. Wyniki tych badań cechuje wysoka wartość poznawcza, mająca przełożenie praktyczne.

□ Pozostały dorobek publikacyjny wnosi cenne wartości poznawcze i praktyczne w zakresie szeroko rozumianej problematyki roślin specjalnych (w tym wieloaspektowych badań nad hodowlą odpornościową tytoniu i chmielu, wybranymi elementami ich agrotechniki, czy określeniem wpływu stresu suszy). Pod tym względem wykazuje znaczną aktywność naukową, co ważne, realizowaną w więcej niż uczelni czy instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej. Godnym podkreślenia jest fakt, że badania te w znacznej części realizowane były w ramach projektów badawczych.

□ Posiada także wystarczający dorobek w działalności popularyzatorskiej, dydaktycznej i organizacyjnej. Jest więc doświadczonym, w pełni samodzielnym pracownikiem naukowym.

Dr Anna Beata Trojak-Goluch spełnia wymagania stawiane Kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego sformułowana w art. 219 pkt 1, 2b i 3 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018r. (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). Dlatego stawiam wniosek do Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach o nadanie dr Annie Beacie Trojak-Goluch stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Lublin, 8.02.20209 r.


Prof. dr hab. Barbara Kołodziej