

dr hab. inż. Tomasz Warzecha, prof. UR
Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Ul. Podłużna 3, 30-239 Kraków

Kraków, 10.02.2021 r.

RECENZJA

Osiągnięcia naukowego „**Wykorzystanie naturalnych źródeł odporności pochodzących od dzikich gatunków *Nicotiana* w hodowli tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) odpornego na choroby grzybowe i wirusowe**”, aktywności naukowej, dydaktycznej i popularyzatorskiej Pani dr Anny Trojak-Goluch, adiunkta w Zakładzie Hodowli i Biotechnologii Roślin, Instytutu Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo

1. Sylwetka Kandydatki

Pani dr Anna Trojak-Goluch ukończyła w 1996 r. Wydział Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Pracę magisterską pt.: „Zapylenie i zapłodnienie u *Oenothera brevistylis*” napisała pod kierunkiem prof. dr hab. Józefa Bednara. W 2001 r. uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii na podstawie rozprawy „Możliwość wykorzystania gatunku *Nicotiana glauca* Grah. w hodowli odmian tytoniu uprawnego odpornych na czarną zgniliznę korzeni *Thielaviopsis basicola* (Berk et Broome) Ferr”, promotorem pracy był prof. dr hab. Apoloniusz Berbec. W 2001 roku została zatrudniona w Zakładzie Hodowli i Uprawy Roślin Specjalnych (obecnie Zakładzie Hodowli i Biotechnologii Roślin), Instytutu Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach na stanowisku adiunkta, gdzie pracuje do chwili obecnej. Kandydatka nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

2. Obowiązujące przepisy prawne

Obecnie obowiązujące przepisy na podstawie których Kandydatka przygotowała dokumentację oraz przeprowadzana jest recenzja to Ustawa z 20 lipca 2018r. w art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3, Dz.U. 2018, poz. 1668 ze zm. Bazując na wymienionej powyżej ustawie przeprowadzana jest ocena osiągnięcia naukowego oraz pozostałego opublikowanego dorobku naukowego Pani dr Anny Trojak-Goluch.

3. Opinia o przedstawianym osiągnięciu naukowym

3.1.

Podstawą do wystąpienia z wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo jest osiągnięcie naukowe

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

3.2.

Liczba cytowań jej prac według bazy Web of Science wynosi 79 bez autocytowań 66, natomiast w bazie Scopus, która szybciej wprowadza aktualizację danych wynosi 91 wyliczając autocytacje 76. Indeks Hirscha wg. bazy Web of Science 4 natomiast w bazie Scopus IH wynosi 5. Po uzyskaniu stopnia doktora Pani Anna Trojak-Goluch od 2005 roku od pierwszej publikacji w Plant Breeding z różną częstotliwością publikuje artykuły w czasopiśmie z listy JCR. Publikacje z IF pojawiły się również w ostatnich latach (w 2018 r. w Czech Journal of Genetics and Plant Breeding i w 2020 r. w Breeding Science) co na pewno przyczyni się do wzrostu zarówno liczby cytowań i w konsekwencji spowoduje wzrost indeksu Hirscha.

3.3.

Dorobek publikacyjny Pani dr Anny Trojak-Goluch z wyłączeniem publikacji wchodzących do zestawu osiągnięcia naukowego, po uzyskaniu stopnia doktora obejmuje 7 prac w czasopiśmie znajdujących się w bazie JCR o łącznej liczbie punktów 190 i sumarycznym IF 7,229 oraz 7 artykułów w czasopiśmie recenzowanych spoza listy JCR. o łącznej liczbie punktów 54. Ta drobna korekta danych w stosunku do zestawienia Habilitantki wynika z faktu iż Journal of Applied Genetics w 2003 roku nie posiadał IF, stąd w zestawieniu Załącznika 4 str. 55 oraz konsekwentnie w pozostałych załącznikach rozpatrywanego wniosku nie powinien się znaleźć w grupie czasopism z listy JCR. Trafił tam po raz pierwszy dopiero w 2007 roku. Habilitantka prawidłowo podaje liczbę punktów dla tego czasopisma oraz sumaryczny wynik publikacyjny. W związku z tym dorobek publikacyjny z wyłączeniem publikacji wchodzących do zestawu osiągnięcia naukowego w czasopiśmie z listy JCR wynosi 7. Ponadto Doktor Trojak-Goluch jest autorką czterech monografii o łącznej liczbie punktów 30. Chciałbym zwrócić uwagę, na 9 artykułów w czasopiśmie polskojęzycznych (np. Biuletyn IHAR) oraz angielskojęzycznych (np. Acta Biologica Cracoviensia) nierecenzowanych, tym samym bez punktacji MNiSW, ale wymagających również wkładu pracy. Biorąc pod uwagę powyższe, szkoda że prace te nie zostały opublikowane w czasopiśmie punktowanych gdyż to zwiększyłoby całkowity dorobek publikacyjny Pani Doktor. Sumaryczny dorobek wynosi 433 pkt MNiSW oraz IF=14,575 są to prace zarówno przed jak i pod doktoracie włączając zestaw publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe. Bardzo ważnym elementem pracy naukowej pani dr Anny Trojak-Goluch jest twórcza hodowla odmian na tym polu może poszczycić się zarejestrowanymi 7 odmianami tytoniu co przyniosło jej wymierny wzrost aktywności o 130 pkt. przyjmując punktację za wyłączne prawo hodowcy do odmiany przyznane przez COBORU zgodnie z punktacją obowiązującą w okresie objętym oceną parametryczną.

Habilitantka wykazała się również dużą aktywnością w prezentacji wyników swoich badań występując na 7 konferencjach zagranicznych i 26 konferencjach krajowych, oraz przedstawiając postery na 22 konferencjach zagranicznych i 17 krajowych konferencjach.

3.4.

Osiągnięcie opiera się na sześciu artykułach opublikowanych w następujących czasopismach w porządku chronologicznym: Plant Breeding (2), Breeding Science (2), Euphytica (1), Polish Journal of Agronomy (1). Cztery pierwsze czasopisma należą do czasopism posiadających Impact Factor. W pięciu publikacjach Kandydatka jest pierwszym autorem, w czterech autorem korespondencyjnym. Sumaryczny IF prac wchodzących w skład osiągnięcia, wynosi 7,346. Suma punktów według wykazu czasopism punktowanych MNiSW wynosi 155. Poza pracami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego Pani Doktor publikowała w następujących czasopismach z listy JCR (w porządku chronologicznym): Journal of Food Agriculture and Environment (IF 0,435), In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant (IF 1,454), Indian Journal of Genetics (IF 0,465), Czech Journal of Genetics and Plant Breeding (IF 0,652).

3.5.

W pierwszej pracy z 2007 (I.2.1; IF1,092) oraz drugiej z 2011 (I.2.2; IF1,596), obie opublikowane w Plant Breeding Habilitantka brała udział w planowaniu koncepcji pracy a jej całościowy udział w powstaniu publikacji wyniósł 75%. W trzeciej (I.2.3 – Breeding Science; IF1,248) i czwartej pracy (I.2.4 – Euphytica; IF1,618) sumaryczny udział Pani Doktor w powstaniu artykułów wynosił 50 %, w piątej pracy (I.2.5 – Breeding Science; IF1,792) 90%, natomiast w szóstej pracy (I.2.6 – Polish Journal of Agronomy; IF0) jest jedynym autorem. Z formalnego punktu widzenia tak wysoki udział (50-100%) uzasadnia wykorzystanie tych prac jako elementów osiągnięcia naukowego, z powodu wiodącego udziału Habilitantki w powstaniu prac.

W grupie prac nie wchodzących w cykl osiągnięcia naukowego chciałbym zwrócić uwagę na artykuł w In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant (II.2.A.5.) dotyczącym wpływu fitohormonów i źródła eksplantatu na regenerację chmielu w kulturach in vitro, czasopismo posiada stosunkowo wysoki IF, a Pani Doktor miała wiodący udział w powstaniu artykułu oszacowany na 67%. Podobnie w powstaniu artykułu w Breeding Science (II.2.A.4.) dotyczącym wpływu indukowanej poliploidyzacji chmielu na jego cechy morfologiczne i właściwości chemiczne, gdzie udział Habilitantki wynosi 77%. Generalnie udział Kandydatki w pracach z listy JCR nie wchodzących w cykl osiągnięcia naukowego wynosi od 5% do 77%.

3.6.

Habilitantka podjęła próbę wykorzystania dzikich gatunków *Nicotiana* do przeniesienia cechy odporności na czarną zgniliznę korzeni tytoniu powodowaną przez grzyba *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) oraz brązowej plamistości pomidora na tytoniu powodowanej przez wirusa TSWV w hodowli tytoniu odpornego na powyższe choroby. Ten ambitny cel aplikacyjny wiązał się z koniecznością przeprowadzenia eksperymentów związanych z otrzymaniem mieszańców międzygatunkowych, zbadaniem ploidalności otrzymanych mieszańców oraz stabilności introgresji cechy odporności i próbą wyjaśnienia mechanizmu tego międzygatunkowego transferu genów odporności. To bardzo istotny element formalnie konieczny do zaliczenia prezentowanych badań Habilitantki jako

znaczącego przyczynku w poszerzeniu wiedzy w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. W swoim autoreferacie Doktor Trojak-Goluch przedstawia znacznie gospodarcze tytoniu szlachetnego *Nicotiana tabacum* L. jako surowca do produkcji wyrobów tytoniowych oraz alternatywne znaczenie tego gatunku w rolnictwie molekularnym, do produkcji biofarmaceutyków, szczepionek, zrekombinowanych białek, biopolimerów. Ponadto tytoń jest rośliną o dużym znaczeniu edukacyjnym jako modelowa roślina w kulturach in vitro oraz aplikacyjnym jako pomostowy system do badania ekspresji genów zanim zostaną one wprowadzone do rośliny docelowej. Czynnikiem ograniczającym plonowanie tytoniu są m.in. choroby. A wśród najgroźniejszych wymienić można chorobę grzybową, czarną zgniliznę korzeni tytoniu powodowaną przez *Thielaviopsis basicola* oraz brązowa plamistość liści pomidora na tytoniu wywoływana przez wirusa TSWV. Pierwszy patogen powoduje zahamowanie wzrostu, żółknięcie i więdnienie roślin, drugi również zahamowanie wzrostu i rozwoju roślin, pojawianie się chloroz obejmujących duże obszary liści, brązowych plam i nekroz, w efekcie obniżając wielkość i jakość plonu. Obie choroby trudne do zwalczania chemicznego (dla TSWV oprysk na wektory, przenoszące wirusa czyli wciornastka tytoniowca), stąd skuteczną metodą jest hodowla odmian genetycznie odpornych na te patogeny. Źródłem wielu korzystnych cech użytkowych w tym odporności na abiotyczne i biotyczne czynniki środowiska są dzicy krewniacy form uprawnych. W celu przeniesienia tych cech często stosuje się krzyżowania oddalonego, które napotyka wiele barier krzyżowalności, prezygotycznych lub postzygotycznych. Wprowadzenie odporności do genomu *N. tabacum* odbywa się najczęściej poprzez podstawienie pary chromosomów, substytucje segmentalną lub addycje chromosomową. Z hodowlanego punktu widzenia najkorzystniejsza jest substytucja segmentalna, gdyż w mniejszym stopniu dochodzi do przeniesienia niekorzystnych cech użytkowych jako grupa sprzężeń niż w przypadku linii addycyjnych czy substytucyjnych. Dla tytoniu uprawnego donorem genów odporności na *Thielaviopsis basicola* mogą być np. takie gatunki jak *N. glauca*, *N. debneyi*, *N. repanda*. Natomiast źródłem odporności na wirusa TSWV jest wyhodowana w Polsce odmiana Polalta gdzie źródłem odporności był gatunek *N. alata*. Polalta jest to odmiana typu papierosowego ciemnego jednak z powodu szeregu niekorzystnych cech użytkowych nie weszła do uprawy, ale jest źródłem odporności na tego patogena. Prace nad wprowadzeniem odporności na *Th. basicola* do tytoniu w oparciu o *N. debneyi* były prowadzone na świecie ale cecha odporności była sprzężona z obniżeniem plonu i jego jakości. Stąd obiecującą alternatywą okazał się gatunek *N. glauca* który Habilitantka wykorzystwała w swoich badaniach nad wprowadzeniem odporności na czarną zgniliznę korzeni do krajowej odmiany tytoniu Wiślica typu Virginia. Zasadniczym celem osiągnięcia naukowego jaki przedstawia Pani Doktor jest wykorzystanie dzikich gatunków rodzaju *Nicotiana* w hodowli tytoniu odpornego na choroby grzybowe i wirusowe. Tak postawiony cel badań sugeruje zbyt mocno tylko praktyczny aspekt działań Habilitantki polegający na wykorzystaniu źródeł odporności z pokrewnych gatunków i wprowadzeniu cechy odporności na drodze krzyżowań oddalonych. Dobrze, że w dalszej części pojawiają się szczegółowe cele które niosą już w sobie mocny akcent poznawczy.

Cele te podzieliłbym na trzy ważne grupy:

1. Ocena cytologiczna i cytogenetyczna wybranych mieszańców międzygatunkowych, efekty poliploidyzacji genomów oraz wielokrotnego krzyżowania wstecznego, wskazanie dróg intregresji genomu *N. glauca* do genomu *N. tabacum*.

2. Testowanie odporności powstałych mieszańców międzygatunkowych i pokoleń po krzyżowaniu wstecznym na *Th. basicola* i wirusa TSWV, będące zarazem oceną możliwości wykorzystania plazmy zarodkowej *N. glauca* i odmiany Polalta jako źródła odporności, połączone z ich oceną cech morfologicznych, plonotwórczych oraz technologicznych.

3. Ocena możliwości połączenia cechy odporności na *Th. basicola* i wirusa TSWV w genomie tytoniu z zastosowaniem metod biotechnologicznych, oraz wykorzystanie w selekcji form odpornych markerów molekularnych.

W celu oceny możliwości transferu genów z dzikiego gatunku *N. glauca* do tytoniu uprawnego Habilitantka prowadziła obserwację struktury chromosomów i konfiguracji mejotycznych w KMP kolejnych pokoleń mieszańcowych. Zastosowana metodyka świadczy o bardzo dobrej znajomości technik cytogenetycznych i sprawnym posługiwaniu się nimi jak również prawidłowej interpretacji powstających struktur chromosomowych i ich układów. Struktury powstające w diakinezie oraz I metafazie i anafazie niosą informacje na temat możliwych rearanżacji genomów rodzicielskich. Powstające zaburzenia w postaci uniwalentów świadczą o asynaptycznym przebiegu mejozy u amfihaploidów spowodowanym brakiem homologii chromosomów *N. tabacum* i *N. glauca*. Jednak pojawiające się biwalenty (od 1 do 5) świadczą o możliwości zajęcia substytucji segmentalnej. Tym sposobem Pani Doktor sugeruje że możliwą drogą introgresji było włączenie fragmentu obcego chromosomu do genomu *N. tabacum*. To jest niezwykle istotna informacja wyjaśniająca mechanizm cytogenetyczny i z formalnego punktu widzenia artykuł w Plant Breeding (I.2.1) wnosi nową porcję wiedzy w dyscyplinie w której Habilitantka stara się o stopień doktora habilitowanego. Ponadto w artykule tym znajdujemy informację na temat generowania amfidiploidów ich płodności oraz powstających roślin aneuploidalnych czy amfihaploidalnych. Mamy tu szczegółową analizę statusu cytologicznego otrzymanych roślin. Poza biwalntami u amfidiploidów pojawiały się multiwalenty wywołane translokacjami, które mogły być mechanizmem introgresji genomu *N. glauca* do genomu *N. tabacum*. Natomiast w tym miejscu niepotrzebna była informacja na temat nagrody przyznanej za publikację (I.2.1) która pojawiła się na stronie 9 Załącznika 3. Informację taką znajdujemy w innej części dokumentacji (Załącznik 8). Pozostając w obrębie zagadnień wyjaśniających mechanizm introgresji międzygatunkowej zwracam uwagę na pracę Habilitantki w Euphytica (I.2.4.) dotyczącej oceny morfologicznej, cytogenetycznej oraz wybranych elementów płodności amfidiploidów powstałych po skrzyżowaniu *N. wuttkei* (diploid WW) i *N. tabacum* (tetraploid TTTT) odmiany Wiślica. Gatunek *N. wuttkei* jest źródłem odporności na *Peronospora hyoscyami* sp. *tabacina* stąd praca ta ma potencjalny aspekt aplikacyjny co podnosi jej wartość. Autorka stosowała zaawansowane techniki cytogenetyczne i hybrydyzacje in situ oraz kultury in vitro w celu propagacji pokolenia F1 mieszańców i prowadziła dalsze badania na roślinach R1 i roślinach uzyskanych z samozapylenia (pokolenia R2-R4). W pracy tej widoczny jest duży rozwój warsztatu metodycznego Habilitantki, ponieważ pojawiają się tu elementy cytogenetyki molekularnej. Miał na to wpływ staż jaki Pani Doktor odbyła w Plant Science Unit, Applied Genetics and Breeding, Institute for Agricultural and Fisheries Research (ILVO) w Belgii. Zastosowane metody hybrydyzacji in situ GISH pozwoliły na identyfikację genomów rodziców. Dzięki tym metodom wykazano po raz pierwszy istnienie translokacji u mieszańców między gatunkami *N. wuttkei* i *N. tabacum*. To bardzo istotna informacja z formalnego punktu

widzenia, wynik ten jest zdecydowanie novum i poszerza wiedzę w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Praca ta jest ponadto dowodem, że Habilitantka zawiązuje współpracę z renomowanymi ośrodkami naukowymi w celu podnoszenia swoich możliwości badawczych, umie współpracować w zespole, a jej prace nabierają interdyscyplinarnego charakteru. Ma to ogromne znaczenie szczególnie w obecnych czasach, gdy prace badawcze są bardzo rozbudowane i wymagają udziału specjalistów z różnych dziedzin. Autorka zidentyfikowała również region chromosomów gdzie dochodziło do rekombinacji międzygatunkowych. Habilitantka opierając się na wynikach zamieszczonych w pracach I.2.1. i I.2.4. wyjaśnia że możliwy mechanizm intrgresji międzygatunkowej u mieszańców *N. glauca* i *N. tabacum* oraz *N. wuttkei* i *N. tabacum* we wczesnych pokoleniach mieszańcowych polega na koniugacji chromosomów wykazujących szczątkową homologię podczas której może dochodzić do rekombinacji. Drugi przypuszczalny mechanizm introgresji międzygatunkowej to translokacje powstałe podczas losowych pęknięć chromosomów a następnie przemieszczenie odcinka chromosomu do innego. Kolejny aspekt osiągnięcia prezentowanego przez Panią Doktor to możliwość wykorzystania plazmy zarodkowej *N. glauca* w hodowli tytoniu odpornego na *Th. basicola* i zbadanie wpływu tej odporności na cechy użytkowe tytoniu typu Virginia. Tu zwracam uwagę na ważny element formalny spełniany przez prezentowane osiągnięcie. Zdecydowanie artykuł opublikowany w Plant Breeding (I.2.2.) spełnia wymóg spójności tematycznej. Rośliny które zostały bardzo dokładnie scharakteryzowane przez Panią Doktor pod kątem cytologicznym, w aspekcie zaburzeń płodności, wynikających z rearanżacji genomu mieszańców F1, oraz możliwości intrgresji elementów genomu *N. glauca* do tytoniu szlachetnego stały się materiałem wyjściowym do badań odpornościowych oraz jakościowych tytoniu. Ocena odporności roślin pokolenia BC₂F₅-BC₂F₇, które stały się liniami hodowlanymi WGL, została przeprowadzona z zastosowaniem metod sztucznego zakażania w warunkach kontrolowanych (szklarnia). Na podkreślenie zasługuje, że rośliny BC₂F₇ były pierwszymi ma świecie liniami posiadającymi odporność na *Th. basicola* pochodzącą z genomu *N. glauca*. Mając na uwadze niekorzystny wpływ genów odporności na właściwości użytkowe tytoniu, Habilitantka przeprowadziła doświadczenia ścisłe w których oceniła cechy determinujące przydatność produkcyjną tytoniu, były to: pokrój ogólny i wysokość roślin, liczba liści na roślinie, długość, szerokość i powierzchnia liścia środkowego. W grupie cech wpływających na przydatność tytoniu jako surowca do produkcji oceniono: suchą masę blaszki liściowej, zawartość cukrów redukujących i azotu całkowitego oraz nikotyny. Efektem przeprowadzonych badań było wyselekcjonowanie linii hodowlanych posiadających odporność na *Th. basicola* oraz plonujących na poziomie kontrolnej odmiany Wiślica przy równoczesnym zachowaniu wysokich parametrów technologicznych determinujących przydatność dla przemysłu. Jest to niewątpliwym sukces Kandydatki tym bardziej iż był to pierwszy przypadek przeniesienia odporności na *Th. basicola* typu *glauca* do tytoniu uprawnego. Należy tu zwrócić uwagę, że materiał roślinny wytworzony przez Habilitantkę i opisany w artykule w Plant Breeding (I.2.2) stał się materiałem wyjściowym do wytworzenia odmiany Wigola, która w 2014 roku została wpisana przez COBORU do wykazu odmian księgi ochrony wyłącznego prawa. Nowoczesna hodowla stara się łączyć odporność na kilka patogenów w jednym genotypie, co pozwala ograniczać stosownie środków ochrony roślin. Stąd kolejny problem który wypłynął niejako z poprzednich badań to możliwość połączenia w jednym genomie odporności na *Th. basicola* oraz na drugiego ważnego patogena tytoniu,

wirusa TSWV. Badania te zostały opisane w artykule opublikowanym w *Breeding science* (I.2.3.). Taki dobór tematyki badawczej świadczy również o dobrej znajomości aktualnych trendów w hodowli tytoniu, znajomości problemów związanych z występowaniem chorób oraz poszukiwaniem rozwiązania. Ten aspekt prac Habilitantki sprawia, że poza mocnym aspektem poznawczym posiadają one również charakter aplikacyjny. Bazując na materiale (linie WGLB) opisanym w publikacji w *Plant Breeding* (I.2.2.) oraz linii PW834 (odporność przeniesiona z odmiany Polalta) odpornej na wirusa TSWV wygenerowano mieszańce F1, które posiadały pełną odporność na *Th. basicola* i na wirusa TSWV. Pani Doktor przeprowadziła szereg badań odpornościowych polegających na obserwacjach mikroskopowych systemu korzeniowego i testach serologicznych dla potwierdzenia iż rośliny nie są podatne na wymienione patogeny. W ten sposób udowodniała że jest możliwa ekspresja genów odporności na obydwie patogeny w jednym genotypie tytoniu. Wniosek ten ma bardzo duże znaczenie praktyczne dla hodowli odpornościowej tytoniu. Praca w *Breeding Science* (I.2.3.) opisuje również proces uzyskiwania haploidów na drodze androgenezy, trudności z niską frekwencją regeneracji haploidów Autorka tłumaczy wpływem źródła odporności na wirusa TSWV jakim był *N. alata*. W pracy tej zastosowano również techniki molekularne do wykrycia osobników odpornych na wirusa TSWV, co również świadczy o szerokim warsztacie metodycznym Kandydatki. W hodowli twórczej tytoniu duże znaczenie odgrywają homozygotyczne linie, ale ich otrzymanie na drodze klasycznej jest procesem długotrwałym. Stąd zainteresowanie Habilitantki zastosowaniem nowoczesnych metod biotechnologicznych w tym indukcji homozygotycznych linii hodowlanych w kulturach *in vitro*. Niska wydajność uzyskiwana haploidów rodzi konieczność wprowadzenia metod mikropropagacji cennych materiałów hodowlanych. Dlatego jak najbardziej zasadne są wysiłki podjęte przez Habilitantkę przedstawione w artykule w *Polish Journal of Agronomy* (I.2.6.). Celem pracy było tu określenie efektywności regeneracji roślin w wyniku organogenezy pośredniej z fragmentów łodyg 6 mieszańców F1 tytoniu, dwóch linii hodowlanych oraz jako wzorzec odmiany Wiślica, oraz wpływu formy donorowej na stopień ploidalności otrzymanych regenerantów. Bardzo ważnym wnioskiem przedstawionym przez Kandydatkę był określenie korzystnego kierunku krzyżowania komponentów rodzicielskich co ułatwia uzyskanie znacznej liczby linii DH z haploidów mieszańców F1 tytoniu tym bardziej jeśli zawierają geny dzikich krewniaków jak *N. africana*, *N. glauca*, *N. alata*. Rośliny uzyskane w wyniku mikropropagacji opisane w artykule w *Polish Journal of Agronomy* (I.2.6.) stały się materiałem do badania linii DH tytoniu łączących odporność na *Th. basicola* oraz wirusa TSWV oraz oceny ich cech morfologicznych determinujących plonowanie i właściwości chemicznych wpływających na jakość technologiczną surowca. Tu zwracam uwagę na pewną niekonsekwencję chronologiczną publikacji. Kandydatka pisze iż rośliny otrzymane w warunkach *in vitro* a opisane w pracy I.2.6. z 2020 roku stały się materiałem do badań w publikacji I.2.5. z 2016 roku. Oczywiście zaistniała sytuację interpretuję w ten sposób iż materiał ten został wytworzony znacznie wcześniej ale sposób jego wytworzenia został opisany dopiero po fakcie wykorzystania tych materiałów w artykule w *Breeding Science* z 2016 roku. Wynik przedstawione przez Kandydatkę w publikacji w *Breeding Science* (I.2.5.) sugerują możliwość przełamania interakcji pomiędzy genem odporności *RTSW-al* a genami odpowiedzialnymi za deformację liści tytoniu. Bardzo istotnym elementem praktycznym osiągnięcia jest wygenerowanie pierwszych na świecie linii hodowlanych

łączących odporność na *Th. basicola* i wirusa TSWV przy zachowaniu cech morfologicznych i właściwości chemicznych typowych dla tytoniu typu Virginia. Osiągnięcie naukowe Pani Doktor zamyka sześć rozbudowanych wniosków które można podsumować w następujący sposób: 1. wyjaśnienie możliwych dróg introgresji cechy odporności dzikich gatunków *Nicotiana* do genomu tytoniu uprawnego poprzez zastosowanie zaawansowanych metod cytogenetycznych, 2. wykorzystanie plazmy zarodkowej gatunków rodzaju *Nicotiana* w celu przeniesienia odporności na choroby do tytoniu uprawnego jest skuteczną metodą wprowadzenia odporności do tytoniu uprawnego, 3. zastosowanie metod biotechnologicznych i markerów molekularnych może przyczynić się do podniesienia efektywności otrzymywania zaawansowanych linii hodowlanych. Bardzo dużym osiągnięciem aplikacyjnym będącym efektem pracy przedstawionych w osiągnięciu Pani Doktor jest uzyskanie linii podwojonych haploidów tytoniu (*N. tabacum* WGL3 x PW834) posiadających odporność na *Th. basicola* i wirusa TSWV przy zachowaniu charakteru tytoniu typu Virginia, ponadto udział w wytworzeniu odmiany Wigola odpornej na *Th. basicola*.

Podsumowując tę część dorobku naukowego Kandydatki stwierdzam, że poziom prac badawczych Doktor Anny Trojak-Goluch jest wysoki, a przedstawione publikacje prezentują Jej najważniejsze osiągnięcie naukowe i w pełni spełniają wymóg spójności tematycznej badań.

4. Informacja o spełnieniu przez kandydata kryterium dotyczącego wykazania się istotną aktywnością naukową.

Dla większej czytelności i jednolitości omawianego dorobku powołuję się na punktacje adekwatną dla danej pozycji zestawiania publikacyjnego zgonie z listą MNiSW w roku wydania. Dorobek publikacyjny Pani dr Anny Trojak-Goluch z wyłączeniem publikacji wchodzących do zestawu osiągnięcia naukowego, obejmuje 7 prac (zmiana wyniku z uwagi którą poczyniłem w akapicie 3.3.) w czasopismach znajdujących się w bazie JCR o łącznej liczbie punktów 190 i sumarycznym IF 7,229 oraz 8 artykułów w czasopismach recenzowanych spoza listy JCR (w tym 1 artykuły przed doktoratem) o łącznej liczbie punktów 58. Ponadto Doktor Trojak-Goluch jest autorką czterech monografii o łącznej liczbie punktów 30. Sumaryczny dorobek publikacyjny Pani Doktor wynosi 278 punktów, są to prace zarówno przed jak i pod doktoracie z wyłączeniem zestawu publikacji osiągnięcia naukowego. Dużym osiągnięciem jest również współautorstwo 7 odmian tytoniu za które Habilitantka otrzymała 130 pkt. przyjmując punktację za wyłączne prawo hodowcy do odmiany przyznane przez COBORU zgonie z punktacją obowiązującą w okresie objętym oceną parametryczną.

Pani Doktor wykazała się również dużą aktywnością w prezentacji wyników swoich badań przedstawiając 21 komunikatów na konferencjach zagranicznych i 19 komunikatów na konferencjach krajowych. Zwracam również uwagę na 9 publikacji nierecenzowanych, które potencjalnie mogły by zwiększyć punktowy dorobek publikacyjny Kandydatki. Jest ona również autorką 42 ekspertyz i opracowań, 2 instrukcji i materiałów szkoleniowych oraz 3 publikacji popularnonaukowych. Liczba cytowań jej prac według bazy Scopus wynosi 91, a indeks Hirscha 5.

Czasopisma o zasięgu międzynarodowym z listy JCR w których Kandydatka publikowała swoje prace z wyłączeniem osiągnięcia naukowego to Plant Breeding, Journal of Food Agriculture and Environment, Breeding Science, In vitro cellular and developmental Biology-Plant, Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, Czech Journal of Genetics and Plant Breeding.

Kandydatka nawiązała współpracę z następującymi placówkami badawczymi w kraju i za granicą (kolejność chronologiczna): Akademia Rolnicza w Lublinie (Instytut Nauk Rolniczych w Zamościu); następnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie (Prof. dr hab. Ewa Solarska); Institute of Plant Breeding, Seed Science and Population Genetics, University of Hohenheim; Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran; Philips Morris Products S.A. Switzerland, Dział Naukowy; University of Santiago de Compostela, Department of Agroforestry Engineering, Hiszpania. Pani Doktor odbyła również dwa staże zagraniczne jeden w Laboratory of Flow Cytometry LFC, Institute of Botany, Academy of Sciences of Czech Republic, staż ten był bardzo owocny gdyż umiejętności tam nabyte zostały wykorzystane przy realizacji grantu (NN310 437538) którego Kandydatka była kierownikiem, wyniki z tego grantu zostały opublikowane w czasopiśmie Breeding Science. Drugi staż miał miejsce w Plant Science Unit, Applied Genetics and Breeding, Institute for Agricultural and Fisheries Research (ILVO) w Belgii. Efektem tego stażu jest istotne poszerzenie warsztatu metodycznego o techniki cytologiczne i hybrydyzacje in situ GISH, staż zaowocował również współpracą z tą jednostką i bardzo dobrą publikacją w Euphytica będącą elementem osiągnięcia naukowego. Tu chciałbym zwrócić uwagę na istotny formalny aspekt tej współpracy, dzięki niej Kandydatka wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej w szczególności zagranicznej.

Tematyka prac nie wchodzących w zakres osiągnięcia naukowego (Załącznik 7) przedstawiona przez Kandydatkę w niniejszym opracowaniu skupia się na również na badaniach tytoniu np. skuteczności preparatów herbicydowych w uprawie tytoniu, możliwościami zmniejszenia nakładów na produkcję surowca tytoniowego i większej mechanizacji uprawy tytoniu. Mamy również prace dotyczące badań nad statusem cytologicznym mieszańców *N. tabacum* i *N. glauca* (praca II.2.A.1.) w Journal of Applied Genetics, czy prace dotyczące możliwości wykorzystania plazmy zarodkowej *N. glauca* w hodowli tytoniu odpornego na czarną zgniliznę korzeni (praca II.2.A.2) w Plant Breeding. Efektem zainteresowań Kandydatki patogenami tytoniu jest praca traktująca o odporności tego gatunku na wirusa Y ziemniaka u tytoniu. Badania były prowadzone we współpracy z Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran a ich efektem jest publikacja w Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, z formalnego punktu widzenia to również dowód istotnej aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej w szczególności zagranicznej. Poza tytoniem w obszarze zainteresowań badawczych Pani Doktor był również chmiel. Chciałbym tu zwrócić uwagę na artykuł w Breeding Science (II.2.A.4.) dotyczący wpływu indukowania poliploidów chmielu na jego cechy morfologiczne i właściwości chemiczne a tym samym przydatność technologiczną. Praca ta jest efektem stażu i współpracy z Laboratory of Flow Cytometry LFC, Institute of Botany, Academy of Sciences of Czech Republic. Tematykę dotyczącą chmielu znajdujemy w artykule w In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant (II.2.A.5.) gdzie Autorka testowała wpływ rodzaju eksplantatu i kombinacji fitohormonów na efektywność

organogenezy w kalusie oraz frekwencje indukcji tetraploidów. Udział Habilitantki w powstaniu prac nie wchodzących w cykl osiągnięcia poza jedną pracą gdzie wynosi 5% jest wysoki od 35% do 77%. W większości prac recenzowanych (84%) jest poza tym pierwszym autorem lub autorem korespondencyjnym. Badania prowadzone przez Habilitantkę są dość rozległe ale podsumowując ten obszar działań można stwierdzić, że głównie dotyczą dwu gatunków, tytoniu i chmielu oraz wykorzystania zaawansowanych metod cytogenetycznych, molekularnych i biotechnologicznych w celu poprawy odporności, właściwości morfologicznych i cech technologicznych surowca roślinnego. Tu chciałbym zwrócić uwagę na bardzo trafne połączenie teoretycznych zagadnień cytogenetyki molekularnej i wykorzystania markerów molekularnych w hodowli odpornościowej tytoniu i połączenie tych elementów z praktyczną hodowlą odpornościową tytoniu gdyż Pani Doktor jest autorką 7 odmian tytoniu.

Za swoją działalność zawodową Habilitantka otrzymała trzy nagrody: Nagroda im. Wandy Maliszewskiej dla młodych naukowców IUNG-PIB oraz Nagrodę I stopnia Dyrektora Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa dla Zespołu Prof. dr hab. Apoloniusza Berbec i dr Anna Trojak-Goluch za wyhodowanie i wdrożenie do uprawy odmian mieszańcowych tytoniu odpornych na czarną zgniliznę korzeni. Ogromny wkład Pani Doktor w realizacji, wdrażaniu i upowszechnianiu wyników pracy naukowej został doceniony również na szczeblu ogólnokrajowym. Za wybitne krajowe osiągnięcie mające znaczenie dla wdrażania postępu w praktyce rolniczej, została Ona nagrodzona w 2013 roku przez Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi za „Wyhodowanie i wdrożenie do produkcji odmian mieszańcowych tytoniu Virginia odpornych na czarną zgniliznę korzeni”

Pani dr Anna Trojak-Goluch była kierownikiem projektu „System monitorowania suszy w Polsce” finansowanego przez MRiRW, ponadto była wykonawcą projektów finansowanych przez KBN i NCBR, oraz kierownikiem projektu finansowanego przez KBN. Habilitanta brała również udział jako wykonawca w projekcie EU Proficiency (2009-2012).

Innym aspektem działalności naukowej Kandydatki jest recenzowanie prac do czasopism naukowych, łącznie było ich 13, ale na podkreślenie zasługuje, że są to wyłącznie recenzje artykułów w czasopismach z listy JCR.

5. Ocena działalności dydaktycznej, popularyzacji nauki i organizacyjnej

Pani dr Anna Trojak-Goluch jest adiunktem w Zakładzie Hodowli i Biotechnologii Roślin, Instytutu Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, a jej praca skupia się głównie na prowadzeniu badań naukowych. Pomimo tego może się pochwalić również dorobkiem dydaktycznym i popularyzatorskim, np. prowadzeniem wykładów dla studentów w Studium Podyplomowym IUNG-PIB, w latach 2014-2018 była również opiekunem naukowym kierownika tematu działalności statutowej. Pełniła również dziewięciokrotnie rolę opiekuna naukowego stażystów i praktykantów. Była opiekunem uczniów szkół średnich realizujących badania w ramach Olimpiady Biologicznej. Na przestrzeni lat 2004-2019 prowadziła wykłady i seminaria dla pracowników Ośrodka Doradztwa Rolniczego, studentów i uczniów szkół średnich w ramach Dni Otwartych Drzwi IUNG-PIB oraz Lubelskiego Festiwalu Nauki. Działalność organizacyjna Habilitantki to udział w Komitecie organizacyjnym dwu konferencji naukowych oraz pełnienie funkcji

przewodniczącego sesji naukowej na jednej konferencji. Jest ona członkiem trzech europejskich towarzystw naukowych (CORESTA, AERET, ESA). Zwraca również uwagę współpracę międzynarodową Pani Doktor poprzez udział w realizacji umów z Philips Morris Products S.A. gdzie występowała w charakterze kierownika zadania badawczego lub kierownika projektu. O dużym autorytecie Habilitantki w kraju jako eksperta w dziedzinie hodowli świadczy jej udział w pracach zespołu ds. Hodowli roślin w Polsce powołanego w sierpniu 2017 roku jako organ doradczy przy MRiRW. Ważnym elementem działalności Kandydatki jest również współpraca z otoczeniem społecznym i gospodarczym. Bardzo wysoko oceniam ten aspekt pracy pani dr Anny Trojak-Goluch gdyż jest on dowodem na transfer wiedzy i osiągnięć naukowych Habilitantki do praktycznej hodowli i produkcji roślinnej. W ramach dziewięciu umów współpracowała ona z takimi firmami jak Universal Leaf Tobacco Poland sp. z o. o., Bayer Crop Science sp. z o. o. czy BASF Polska sp. z o. o.

Podsumowując, sądzę że pani dr Anna Trojak-Goluch jest pracownikiem wykazującym się aktywnością popularyzatorską, organizacyjną, ale również dydaktyczną, natomiast wyróżniłbym w tym miejscu bardzo duże zaangażowanie w przenoszenie wyników swoich badań do praktyki. Tym samym jest ona niezwykle skuteczną propagatorką i promotorką postępu biologicznego w produkcji roślinnej.

6. Wniosek końcowy

Bazując się na pozytywnej ocenie dorobku naukowego oraz oryginalności i wartości merytorycznej prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe, jak również wysoko oceniając działalność popularyzatorską i organizacyjną Pani dr Anny Trojak-Goluch stwierdzam, że Kandydatka spełnia wszystkie wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. Prace naukowe Habilitantki posiadają istotny element poznawczy i aplikacyjny oraz wnoszą istotny wkład w poszerzenie wiedzy w ramach dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Ponadto mamy również dowody na przeniesienie osiągnięć naukowych Pani Doktor do praktycznej hodowli roślin i do produkcji roślinnej. Przedstawiony dorobek naukowy spełnia kryteria ustawy z dnia 20 lipca 2018r. w art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3, Dz.U. 2018, poz. 1668 ze zm. dla osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Przedkładam zatem wniosek o nadanie dr Annie Trojak-Goluch stopnia doktora habilitowanego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.



Tomasz Warzecha