



INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
PLANT BREEDING AND ACCLIMATIZATION INSTITUTE
NATIONAL RESEARCH INSTITUTE
Zakład Nasiennictwa i Ochrony Ziemiaka w Boninie,
<http://www.ihar.edu.pl>, <http://ziemniak-bonin.pl>,
REGON 000079480, NIP 529-000-70-29, KRS 0000074008
Nr konta: BZ WBK III O/Koszalin 36 1500 1096 1210 9002 5721 0000

dr hab. Krzysztof Treder
Z-ca Kierownika Oddziału
IHAR-PIB w Boninie,
Bonin 3 76-009 Bonin
e-mail: k.treder@ihar.edu.pl
tel. 94 342-30-31 w. 207

Bonin, 20.10.2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Depty

„Ocena zasobów genowych rodzaju *Nicotiana* pod względem odporności na najważniejsze choroby wirusowe tytoniu”

Uzasadnienie wykonania recenzji

Rozprawa doktorska mgr inż. Anny Depty została wykonana w Instytucie Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowym Instytucie Badawczym w Puławach pod opieką promotora prof. dr hab. Teresy Doroszewskiej oraz promotora pomocniczej dr Anny Czubackiej. Recenzję wykonałem w związku z powołaniem mojej osoby na recenzenta w postępowaniu doktorskim mgr inż. Anny Depty uchwałą Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach z dnia 10.08.2023 r.

Jednocześnie oświadczam, że tematyka rozprawy jest zgodna z moją specjalizacją naukową, nie jestem współautorem prac naukowych Doktorantki, nie prowadziłem i nie prowadzę wspólnie prac naukowych i jak dotąd nie brałem udziału w postępowaniach o awans naukowy Doktorantki.

Formalna ocena rozprawy

Rozprawa doktorska pani mgr inż. Anny Depty liczy 152 strony, włączając w to: (i) kartę tytułową, (iii) podziękowania, (iv) tworzące właściwą dysertację zbiorcze omówienie zawierające dwanaście rycin i sześć tabel, (v) 164 pozycje literaturowe, (vi) pięć manuskryptów publikacji naukowych, oraz (vii) oświadczenia.

Rozprawa złożona jest z czternastu rozdziałów, z których część zawiera podrozdziały.

Struktura dysertacji obejmuje (1) Spis publikacji wchodzących w skład rozprawy, (2) Wstęp, (3) Hipotezę i Cel badań, (4) Przegląd literatury, (5) Materiały i metody, (6) Wyniki, (7) Dyskusję, (8) podsumowanie i wnioski (9) Literaturę, (10) Streszczenie w języku polskim, (11) Streszczenie w języku angielskim (12) Kopie publikacji wchodzących w skład dysertacji (13) oświadczenia doktoranta i współautorów dotyczące wkładu w przygotowanie publikacji oraz (14) oświadczenia promotora, promotora pomocniczego i autorki rozprawy doktorskiej. Rozdziały od Wstępu po Literaturę stanowią właściwą dysertację, która jest zbiorczą syntezą cyklu publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej. Takie podejście jest jednocześnie twórcze, jak i dodatkowo potwierdza, że cykl publikacji w istocie tworzy jedno, wspólne dzieło. Kolejność manuskryptów podana w Spisie publikacji nie odzwierciedla kolejności ich powstania, są one uszeregowane zgodnie z logicznym ciągiem badań, co jest wyraźnie widoczne w ich wspólnych omówieniu. Strukturę rozprawy uważam za logiczną, przejrzystą i bardzo dobrze przemyślaną, z wyjątkiem rozdzielenia Wstępu i Przeglądu literatury na osobne rozdziały, o czym więcej piszę w dalszej części recenzji.

We **Wstępie** Autorka podała informacje dotyczące cyklu publikacji stanowiącego podstawę rozprawy, dokonała krótkiej charakterystyki kolekcji zasobów genowych utrzymywanej przez IUNG-PIB w Puławach, omówiła biologię, genetykę i znaczenie tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum*) oraz najważniejsze choroby tytoni i ich sprawców, w tym najważniejsze patogeny wirusowe. Kolejny rozdział to **Hipoteza i Cel badań**, w którym Kandydatka przedstawiła hipotezę badawczą, cel główny oraz cele szczegółowe. Mocno rozbudowaną część rozprawy stanowi rozdział **Przegląd literatury**. Moim zdaniem, stanowi on logicznie rozwinięcie Wstępu, i uważam, że tam powinien się znaleźć. W dalszej części rozprawy Doktorantka omówiła metodykę badań w rozdziale **Materiały i metody**, który podzieliła na dwa podrozdziały, opisujące część doświadczalną rozprawy. Następnie w rozdziale **Wyniki** Doktorantka opisała zbiorczo wyniki badań podzielone zgodnie z wirusem, na który poszukiwała źródeł odporności. Podobny podział zastosowała w rozdziale **Dyskusja**, gdzie każdy z trzech podrozdziałów poświęciła dyskusji wyników uzyskanych w trakcie oceny odporności źródeł na poszczególne wirusy w świetle aktualnego stanu wiedzy. W rozdziale **Podsumowanie wyników i wnioski** podsumowała wyniki z opisanych w rozprawie badań w dwunastu trafnie sformułowanych wnioskach, które miały jednocześnie charakter poznawczy, jak i duży potencjał wdrożeniowy. **Literatura** obejmuje 162 pozycje, z których większość to publikacje anglojęzyczne. Ponad połowę literatury stanowią pozycje (66%), które ukazały się w ciągu ostatnich 25 lat, a około 33% w ciągu ostatniego dziesięciolecia. Duży udział publikacji starszych świadczy o tym, że tematyka, którą zajęła się Kandydatka jest rozwijana

od dekad i jest nadal ważna. Jednocześnie Doktorantka, sięgając do kluczowych, starszych źródeł, w swoich badaniach korzystała przede wszystkim z najnowszej literatury przedmiotu. Bogactwo źródeł literaturowych i ich dobór, świadczą o tym, że Doktorantka dokonała gruntownego przeglądu literatury obejmującej kluczowe aspekty badawcze, związane z przedmiotem rozprawy doktorskiej. **Streszczenie** w języku polskim i angielskim podaje syntetyczny opis prac i wyników uzyskanych przez Doktorantkę. W mojej opinii, praca doktorska Pani mgr inż. Anny Depty, pomimo niepotrzebnego rozdzielenia Wstępu i Przeglądu literatury na osobne rozdziały, ma przejrzystą strukturę i jest przygotowana bardzo starannie z dużą dbałością o szczegóły. Pozytywnie oceniam rozprawę pod względem formalnym.

Ocena merytoryczna

Zasoby genowe roślin użytkowych stanowią postawę dla pracy hodowców, prowadzącej do powstawania nowych odmian użytkowych, jak również stanowią bazę dla badań podstawowych. Są jednocześnie źródłem genów o charakterze użytkowym, jak i warunkujących odporność na stresy biotyczne i tolerancję na stresy abiotyczne. Dlatego każda tego typu kolekcja stanowi bezcenny kapitał rozwojowy na skalę krajową i świata. Rodzaj *Nicotiana* poza jego znaczeniem użytkowym, które wykracza poza przemysł tytoniowy i coraz bardziej wiąże się z zieloną biotechnologią obejmuje gatunki takie jak *N. tabacum* czy *N. benthamiana*, które są jednymi z najbardziej przebadanych gatunków roślin dwuliściennych, a w całym świecie roślin ustępują jedynie *A. thaliana*. Z tego powodu, jak również z uwagi na łatwość transformacji, hodowli protoplastów czy też dużą biomasę są doskonałym modelem badawczym w naukach podstawowych, jak również naturalnym bioreaktorem do produkcji metabolitów, rekombinowanych białek czy szczepionek. Z uwagi na bliskie pokrewieństwo z takimi gatunkami uprawnymi jak ziemniak, pomidor, papryka czy bakłażan, wyniki badań uzyskane na tytoniu, mają duże znaczenie w wyjaśnianiu zjawisk i procesów biologicznych na każdym poziomie organizacji również w tych gatunkach. Z tymi bliskimi krewnymi dzielą też często podatność na te same patogeny, szczególnie w odniesieniu do wirusów. Z uwagi na to badanie zasobów genowych rodzaju *Nicotiana* pod względem scharakteryzowania reakcji na infekcje wirusowe i identyfikację źródeł odporności ma duże znaczenie nie tylko dla tytoniu, ale i dla głębszego zrozumienia mechanizmów interakcji z patogenami wirusowymi również u spokrewnionych z nim gatunków użytkowych. Dlatego podjęcie badań w tej tematyce uważam za niezwykle cenne i zasadne.

W pierwszej części **Wstępu** Autorka wykazała, że cykl publikacji naukowych będący podstawą dysertacji stanowi spójne tematycznie dzieło i spełnia wymogi formalne definiowane

przepisami prawa jak i Regulaminem Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach. Następnie podała summaryczne dane nauko-metryczne dla całego cyklu i pokrótce scharakteryzowała zakres badań jaki publikacje wchodzące w cykl obejmują. Dzięki tym informacjom można szybko ocenić, że prace te rzeczywiście stanowią jednotematyczne dzieło i spełniają wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim. W dalszej części wstępu Autorka pokrótce przedstawiła historię i opisała kolekcję zasobów genowych rodzaju *Nicotiana* w Puławach, omówiła jej znaczenie na tle podobnych banków genów w Europie i na świecie. Kolekcja zasobów genowych utrzymywana w macierzystym Instytucie Doktorantki jest jedną z większych na świecie, obejmując 1008 obiektów, w tym sto czterdzieści pięć obiektów z których sześćdziesiąt pięć to dzikie gatunki, formy autotetraploidalne i odmiany botaniczne, osiemdziesiąt trzy to odmiany machorki, a 780 pozostałych obiektów to odmiany tytoniu szlachetnego. Bardziej szczegółowo Doktorantka skupiła się na opisie znaczenia i genetyce tytoniu szlachetnego, oraz na opisie najważniejszych chorób i powodujących je patogenów, w tym chorób wywoływanych przez najważniejsze wirusowe patogeny tytoniu – wirus Y ziemniaka (PVY, *Potato virus Y*), wirus brązowej plamistości pomidora (TSWV, *Tomato spotted wilt virus*) i wirusa mozaiki tytoniu (TMV, *Tobacco mosaic virus*). Końcowa część wstępu stanowi jednocześnie krótkie uzasadnienie dla badań podjętych przez Doktorantkę. Jej logicznym następstwem jest kolejny rozdział – **Hipoteza i Cel badań**, w którym Kandydatka prawidłowo sformułowała zarówno hipotezę badawczą jak i cel główny oraz cele szczegółowe. Przedstawiona hipoteza badawcza zakłada, że w obrębie zasobów genowych rodzaju *Nicotiana* występują obiekty posiadające odporność na badane w pracy wirusy PVY, PSWV i TMV. Celem głównym badań była ocena zasobów genowych pod względem odporności na wymienione wirusy, a cel szczegółowe obejmowały dokładną charakterystykę zidentyfikowanych źródeł odporności pod względem objawów chorobowych po inokulacji, obecności wirusa badanego immunoenzymatycznie i zróżnicowania genetycznego źródeł badanego za pomocą markerów molekularnych. Założenia pracy poza aspektem poznawczym mają również znaczenie praktyczne, ponieważ identyfikacja odpornych genotypów ma kluczowe znaczenie w hodowli odpornych odmian. Kolejną część rozprawy stanowi rozdział **Przegląd literatury**, na który składają się dwa podrozdziały, jeden dedykowany szczegółowemu przeglądowi literatury dotyczącej biologii i genetyki rodzaju *Nicotiana* i drugi podający podstawowe informacje na temat badanych w rozprawie wirusów, oraz stan wiedzy na temat znanych źródeł odporności na te wirusy. Moim zdaniem omówiony Przegląd literatury logicznie stanowi rozwinięcie Wstępu, i uważam, że tam powinien się znaleźć. Oba rozdziały wzajemnie się uzupełniają i w połączeniu stanowią mocną podstawę uzasadniającą konieczność

podjęcia badań będących przedmiotem rozprawy doktorskiej Kandydatki. Dodatkowo, w części Przeglądu literatury dotyczącej wirusa Y ziemniaka, Doktorantka nieprawidłowo opisuje szczep PVY^N jako dzielący się zależnie od wywoływanych objawów dwie podgrupy – PVY^{NW} i PVY^{NTN} (strona 20 rozprawy, wersy 4-7 licząc od dołu strony). PVY^{NW} i PVY^{NTN} to nie podtypy PVY^N. Są to szczepy, które powstały na skutek rekombinacji pomiędzy różnymi fragmentami genomów rodzicielskich PVY^O i PVY^N. Przy czym część genomu kodującą białko płaszcz szczep PVY^{NW} odziedziczył po szczepie rodzicielskim PVY^O a szczep PVY^{NTN} po szczepie PVY^N, stąd opisywana dalej możliwość rozróżniania tych szczepów za pomocą przeciwciał monoklonalnych. Należy zaznaczyć, że bez dodatkowego biotestu na roślinach o określonych genach odporności lub testu molekularnego serologicznie nie da się odróżnić rekombinowanego szczepu PVY^{NW} od PVY^O, czy PVY^{NTN} od PVY^N.

Pomimo tych dwóch krytycznych uwag, bardzo wysoko oceniam jakość i czytelność informacji podanych w obu, uzupełniających się rozdziałach. Razem prezentują przejrzysty przegląd wiedzy, wprowadzający czytelnika w tematykę badawczą rozprawy poczynając od ogólnych informacji we Wstępie i przechodząc w Przeglądzie literatury do szczegółowych informacji na temat biologii, genetyki i znaczenia praktycznego rodzaju *Nicotiana*, oraz omówienia badanych wirusów wraz z problemami dotyczącymi identyfikacji i wykorzystaniem tytoni, mogących stanowić źródła odporności na te wirusy. Szczegółowe omówienie tych problemów mocno uzasadnia podjęcie tego typu badań przez Doktorantkę.

W dalszej części rozprawy Doktorantka omówiła metodykę badań w rozdziale **Materiały i metody**, który podzieliła na dwa podrozdziały. Pierwszy (Materiał badawczy) definiuje roślinny i wirusowy materiał badawczy i prezentuje jego charakterystykę oraz odniesienie do bardziej szczegółowych informacji zawartych w metodyce wskazanych publikacji naukowych. Zbiorczą charakterystykę badanych obiektów *Nicotiana* i stosowanych do badań izolatów wirusów Autorka podała w dwóch czytelnych tabelach (tabele 2 i 3). Z tabeli 2 wynika, że pod kątem reakcji na PVY Doktorantka przebadła 126 obiektów, na TSWV – 99 i na TMV – 73 obiekty. W przypadku PVY Doktorantka uwzględniła w badaniach sześć izolatów zaliczanych do szczepu PVY^{NW}, cztery izolaty PVY^{NTN} oraz jeden izolat PVY^{NZ}. Drugi podrozdział (Metody badawcze) podzielony jest na mniejsze podrozdziały opisujące sposób w jaki wykonała testy odpornościowe na poszczególne wirusy, metodykę testów serologicznych i opis zastosowanych metod molekularnych obejmujący metodykę izolacji DNA i warunki reakcji PCR stosowanej do wykrywania markerów genów odporności. Same markery zostały czytelnie scharakteryzowane w tabeli nr 4. W tej części brakuje mi informacji ile roślin tytoniu infekowano danym izolatem PVY i TWSV w jednym powtórzeniu. Liczba infekowanych roślin

jest podana dla TMV. Nie jest to duży problem, ponieważ Doktorantka odsyła czytelnika po szczegółowy opis metod do właściwych dla danego wirusa publikacjach źródłowych, gdzie taka informacja jest dostępna. Podsumowując, materiały i metody zostały opisane czytelnie, dobór metodyki jest właściwy do realizacji planowanych celów pracy. Tabele charakteryzujące tytoń, wirusy i markery są czytelne i ułatwiają późniejszą analizę wyników.

W rozdziale **Wyniki** Doktorantka we wstępnej części omówiła jakie badania są przedmiotem poszczególnych publikacji. Następnie opisała zbiorczo wyniki badań podzielone na trzy podrozdziały zgodnie z wirusem, na który poszukiwała źródeł odporności. Pierwszy dotyczył poszukiwania źródeł odporności na PVY. W ramach tych badań Doktorantka stwierdziła, że w rodzaju *Nicotiana* cztery gatunki są skrajnie odporne a dwadzieścia sześć wykazuje tolerancję na wszystkie badane izolaty wirusa. Dla pozostałych gatunków rodzaj odpowiedzi na wirus determinował zarówno rodzaj izolatu jak i genotyp rośliny. Wyniki badań pozwoliły na usystematyzowanie badanych gatunków w zależności od tego czy były odporne, tolerancyjne czy podatne względem użytych izolatów PVY. Doktorantka wykazała, że nie badany dotąd gatunek *N. mutabilis* i dwa gatunki pokrewne: *N. alata* i *N. forgetiana* wykazują tolerancję wobec izolatów PVY o różnej zjadliwości i jednocześnie nie posiadają genu *Va* kodującego NsyleIF4E1 - formę eukariotycznego czynnika inicjującego translację 4E, odpowiedzialnego za podatność tytoni na PVY. W przypadku *Nicotiana tabacum*, Doktorantka przebadła dwadzieścia pięć odmian uprawnych. Wykazała, że szesnaście odmian charakteryzowało się delecją genu NsyleIF4E1, czyli posiadają odporność typu *va* (dziedziczną recesyjnie). Dla pozostałych odmian Doktorantka wykryła obecność markerów potwierdzających obecność genu podatności *Va*. Odmiany z obu grup wykazały zróżnicowaną reakcję na słabe i silne szczepy PVY. Bardzo interesujące wydają mi się wyniki dotyczące grupy odmian *N. tabacum*, które pomimo obecności genu *Va*, wykazują tolerancję na badane izolaty PVY. Szczególnie ciekawa jest odmiana Węgierski Ogrodowy, odporna na słaby izolat IUNG23, tolerancyjna względem średniego izolatu IUNG17 i podatna na oba silne izolaty PVY (IUNG22 i IUNG20). W podrozdziale drugim Autorka omówiła badania nad reakcją odpornościową na TSWV przeprowadzone 99 obiektach, w tym 63 gatunkach z rodzaju *Nicotiana*. Podobnie jak w przypadku PVY, Doktorantka uzyskała zróżnicowaną reakcję zależną od genotypu rośliny. Wykazała, że odporność typu nadwrażliwości występuje u dwóch gatunków tytoni, jednego mieszańca oraz dwóch odmian uprawnych *N. tabacum* (Polalta i Wiktoria). Co ciekawe, badane populacje nie były pod tym względem jednorodne. Doktorantka obserwowała zróżnicowanie reakcji nadwrażliwości od lokalnej po systemiczną (czyli już podatność) wykazała dla różnych populacji gatunku *N. alata*, mieszańca *Nicotiana x sanderae*

oraz dla roślin *N. tabacum* odmiany Wiktoria, gdzie tylko cztery rośliny z 19 badanych wykazały reakcję nadwrażliwości, podczas gdy pozostałe były podatne na wirus. Objawy tolerancji obserwowano u 9 gatunków, podczas gdy 71 gatunki okazały się silnie podatne na TSWV. Analiza molekularna wykazała, że odmiany wykazujące odporność typu *HR* lub reagujące systemicznie reakcją nadwrażliwości posiadają markery SCAR związane z genami odporności. Co ciekawe, dla badanych roślin odmiany Wiktoria obecność tych markerów również pokrywała się z roślinami wykazującymi odporność. W ostatnim podrozdziale Autorka opisuje wyniki badań nad źródłami odporności na TMV, które prowadziła w różnych warunkach temperaturowych. Wykazała, że można zdefiniować cztery rodzaje reakcji badanych obiektów na ten wirus. Najwięcej genotypów reagowało podatnością na wirus. Drugim rodzajem była zależna od temperatury tolerancja – rośliny w niższej temperaturze nie wykazywały objawów mimo obecności wirusa, a objawy mozaiki występowały w podwyższonej temperaturze. Trzeci rodzaj reakcji to zależna od temperatury reakcja nadwrażliwości. Czwartym, najbardziej interesującym rodzajem była reakcja nadwrażliwości niezależna od temperatury zidentyfikowana przez Doktorantkę w *N. gossei*. Za pomocą badań molekularnych Autorka wykazała, że reakcja nadwrażliwości zależna od temperatury korelowała z obecnością genu *N*. Jednocześnie nie stwierdziła obecności tego genu w *N. gossei* wykazującym stabilną odporność w postaci niezależnej od temperatury reakcji nadwrażliwości.

Przedstawiony przez Autorkę opis wyników był jasny i precyzyjny, poszczególne podrozdziały tworzyły logiczną całość, gdzie początkiem badań był screening dzikich gatunków i odmian uprawnych pod względem ich reakcji na badany wirus, po którym następowła głębsza analiza ciekawszych przypadków zakończona analizą markerów molekularnych. Opis wyników oceniam pozytywnie. Wkradły się jednak drobne błędy w opisie tabel. W tabeli 5 brakuje wyjaśnienia skrótu MS, w tabeli 6 – skrótu CS.

Podział na podrozdziały, analogiczny do rozdziału Wyniki zastosowała Doktorantka w rozdziale **Dyskusja**, gdzie każdy z trzech podrozdziałów poświęciła dyskusji wyników uzyskanych w trakcie oceny odporności źródeł na poszczególne wirusy w świetle aktualnego stanu wiedzy. Zróżnicowaną reakcję badanych obiektów na wirusy omawiała w porównaniu do prac innych badaczy i podawała w oparciu o swoje i innych wyniki hipotezy wyjaśniające obserwowaną zmienność reakcji na infekcje wirusowe. W przypadku odmian tytoni z genem odporności *va* zróżnicowaną reakcją na PVY Doktorantka wyjaśnia różną długością delekcji w obrębie genu podatności *Va*, wykazaną przez innych autorów. Szczególną odporność odmiany VAM wiąże z opisywanym w literaturze występowaniem dwóch genów recesywnych *va1* i *va2*, a tolerancję grupy pięciu odmian uprawnych z niedawno zidentyfikowanym genem

recesywnym *NtTPNI*. Ciekawe wyniki uzyskane dla odmiany Węgierski Ogrodowy są dla Doktorantki podstawą do dyskusji hipotezy, że mechanizm odporność na słaby szczep PVY i tolerancji na średni jest niezależny od obecności wariantu białka wiążącego kap warunkującego podatność na PVY, bo ta odmiana posiada gen *Va*. Odporność na TSWV, zależną od populacji, a w przypadku odmiany uprawnej Wiktor, nawet osobniczo, Autorka wyjaśnia niepełną homozygotycznością badanych obiektów i również dyskutuje w świetle podobnych wyników opisywanych przez inne zespoły badawcze. Również w odniesieniu do reakcji na TMV Autorka dyskutuje podłoże molekularne uzyskanych wyników i podkreśla wagę identyfikacji odporności niezależnej od temperatury u gatunku *N. gossei*. W mojej opinii, Doktorantka bardzo trafnie dobrała literaturę do dyskusji swoich wyników, co wskazuje na bardzo dobre rozpoznanie podjętej tematyki badawczej. Jednocześnie nie powtarza części wstępu czy przeglądu literatury, ani opisu wyników. Rozdział ten stanowi rzeczywistą dyskusję podsumowanych wyników własnych z wynikami opisanymi w literaturze przedmiotu.

W rozdziale **Podsumowanie wyników i wnioski** Doktorantka podsumowała wyniki z opisanych w rozprawie badań w dwunastu trafnie sformułowanych wnioskach, które miały jednocześnie charakter poznawczy, jak i duży potencjał wdrożeniowy. Za szczególnie ważne uważam wnioski nr 5 i 6 w związku z identyfikacją przez Doktorantkę nowych rodzajów odporności i tolerancji na PVY, co warto jest podjęcia bardziej szczegółowych badań molekularnych i hodowlanych. Równie ważny w mojej opinii jest wniosek 12, gdzie Doktorantka wskazuje na *N. gossei* jako źródło nowego rodzaju stabilnej odporności na TMV. Również w tym przypadku uważam, że kontynuacja badań na obu wymienionych wcześniej poziomach będzie prowadzić do ekscytujących i ważnych wyników.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest dowodem na to, że Doktorantka posiada umiejętności niezbędne do planowania badań naukowych, doboru właściwych materiałów i metod, analizy i prezentacji wyników oraz ich dogłębnej dyskusji w świetle dobrze dobranej literatury prowadzącej do stawiania ciekawych hipotez wyjaśniających uzyskane wyniki i prowadzących do stawiania trafnie sformułowanych wniosków, co zostało odzwierciedlone w ocenianej przeze mnie pracy.

Podczas czytania nasunęły mi się pewne pytania, które mają charakter dyskusyjny i chętnie bym poznał odpowiedź Doktorantki na nie w trakcie publicznej obrony rozprawy doktorskiej:

1. Wiadomo, że u niektórych gatunków odporność recesywna polega nie na delecji genu kodującego wariant białka eIF4E zdolny do interakcji z białkiem VPg wirusa PVY, lecz na naturalnych punktowych mutacjach, zmieniających aminokwasy białka 4E odpowiedzialne na fizyczne wiązanie z białkiem VPg. Czy tego typu odporność można

by wprowadzić do *N. tabacum* na drodze hodowlanej, a jeżeli nie, to czy możliwe jest to za pomocą modyfikacji genetycznej?

2. W swoich badaniach scharakteryzowała Pani nowy rodzaj tolerancji grupy tytoni (w tym Złotolistny IHAR) na PVY, ponieważ odmiany te mają funkcjonalne białko eIF4E-1 (*Va*). Czy ma Pani pomysł, jaki jest mechanizm tej tolerancji na poziomie molekularnym i czy planuje Pani w przyszłości takie badania?
3. Analogicznie ciekaw jestem, czy ma Pani hipotezę dotyczącą molekularnego podłoża reakcji odmiany Węgierski Ogrodowy na badane izolaty PVY?

Ocena końcowa

Przedstawiona do recenzji praca doktorska obejmuje bardzo obszerne i pracochłonne badania mające na celu charakterystykę reakcji dużej liczby badanych obiektów na infekcję trzema najważniejszymi dla tytoniu wirusami – PVY, TSWV i TMV, przy czym w przypadku wirusa PVY badania takie siłą rzeczy musiały obejmować izolaty zaliczane do różnych powszechnie spotykanych szczepów tego wirusa. Prace te były uzupełnione o serologiczną identyfikację badanych wirusów w testowanych obiektach oraz o analizę obecności markerów molekularnych. Na podstawie pracy doktorskiej Doktorantki mogę stwierdzić, że prezentuje ona bardzo dobrą znajomość problematyki, którą się zajęła, wykazała umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych, dysponuje niezbędnym ku temu warsztatem metodycznym i posiada umiejętności konieczne do planowania, analizowania, interpretowania i dyskusowania uzyskanych wyników. Dysertacja doktorska Pani mgr inż. Anny Depty wnosi istotny wkład w rozwój nauk rolniczych w obrębie dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo

W mojej opinii, rozprawa doktorska mgr Anny Depty pt. „Ocena zasobów genowych rodzaju *Nicotiana* pod względem odporności na najważniejsze choroby wirusowe tytoniu” spełnia wymagania ustawy o stopniach i tytule naukowym. W związku z powyższym, wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie mgr inż. Anny Depty do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. Krzysztof Treder