



**INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
PLANT BREEDING AND ACCLIMATIZATION INSTITUTE
NATIONAL RESEARCH INSTITUTE**

tel. centrala: +(4822) 7253611, fax: +(4822) 7254714, e-mail: postbox@ihar.edu.pl,
<http://www.ihar.edu.pl>, REGON 000079480, NIP 529-000-70-29, KRS 0000074008
Nr konta: PEKAO I/O Błonie, 54 1240 2164 1111 0000 3561 7204

Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych

PL 05-870 Błonie, Radzików

tel. +(4822) 733 46 50

Dr hab. Maja Boczkowska

Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy

Radzików, 05-870 Błonie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Moniki Agackiej-Mołdoch

**pt. „Żywotność nasion tytoniu w zależności od warunków przechowywania i mapowanie QTL
kontrolujących tę cechę” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Teresy Doroszewskiej
z Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach**

Podstawą wykonania recenzji była uchwała Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach o powołanie recenzenta w przewodzie doktorskim mgr. Moniki Agackiej-Mołdoch z dnia 31-01-2025 przekazana pismem Zastępcy Przewodniczącego Rady Naukowej prof. dr hab. Beaty Feledyn-Szewczyk z dnia 10.02.2025.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi kompleksowe opracowanie problematyki długowieczności nasion gatunków z rodzaju *Nicotiana*. Praca obejmuje dwa główne nurty badawcze tj. ocenę wpływu warunków przechowywania (temperatury, wilgotności) na zachowanie żywotności nasion w bankach genów oraz identyfikację regionów genomowych (QTL) warunkujących zdolność kiełkowania nasion po starzeniu.

Formalny opis rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma charakter kompilacji czterech opublikowanych artykułów naukowych, tematycznie spójnych i powiązanych z zagadnieniem żywotności (długości życia) nasion tytoniu. Objętość i układ pracy mieszczą się w przyjętych standardach dla dysertacji naukowych. Główna część pracy (rozdziały 1–10) liczy 72 strony maszynopisu, na co składają się: wstęp, jasno sformułowane cele i hipoteza badawcza, obszerny przegląd literatury, opis materiału i metod, prezentacja wyników, ich dyskusja, podsumowanie z wnioskami oraz bogata bibliografia (zajmująca łącznie 14 stron). Do pracy dołączono również streszczenie w języku polskim i angielskim (rozdziały 11–12) oraz pełne teksty opublikowanych prac wraz z wymaganymi oświadczeniami o wkładzie Doktorantki i współautorów (rozdziały 13–15). Taki układ rozprawy jest logiczny i kompletny – obejmuje wszystkie wymagane elementy formalne. Praca została starannie zredagowana: tekst jest spójny, napisany poprawnym językiem polskim o stylu

naukowym, terminy fachowe użyte są właściwie. Struktura wewnętrzna pracy (podział na rozdziały i podrozdziały) odzwierciedla tok rozumowania Doktorantki i ułatwia śledzenie kolejnych etapów badań. Rozprawa jest również bogato ilustrowana – zawiera łącznie 11 czytelnych rycin (wykresów, fotografii) oraz 4 tabele, które wspomagają prezentację wyników. Pod względem edytorskim nie stwierdzono istotnych uchybień; ewentualne drobne literówki, numeracja rozdziałów czy stylistyczne niuanse nie zakłócają odbioru treści.

Dorobek publikacyjny Doktorantki stanowiący podstawę rozprawy jest imponujący i wartościowy. W skład dysertacji wchodzi cztery recenzowane artykuły opublikowane w latach 2013–2021 w renomowanych czasopismach naukowych z listy JCR, wszystkie w języku angielskim. Poniżej wymieniam poszczególne prace (zgodnie z kolejnością w rozdziale 13 rozprawy), wraz z informacją o ich parametrach bibliometrycznych i udziale Doktorantki:

1) Agacka M. et al. (2013) – “Viability of *Nicotiana* spp. seeds stored under ambient temperature.” *Seed Science and Technology* 41(3): 474–478.

IF 2013: 0,89; IF (2023): 1,7. Punktacja MNiSW (2013): 20; Punktacja MNiSW (2023): 40. Doktorantka jest pierwszym autorem tej pracy, co wskazuje na jej wiodący wkład w koncepcję badań, wykonanie doświadczeń oraz opracowanie wyników.

2) Agacka M. et al. (2014) – “Longevity of *Nicotiana* seeds conserved at low temperatures in ex situ genebanks.” *Seed Science and Technology* 42(3): 355–362.

IF 2014: 0,61; IF (2023): 1,7. Punktacja MNiSW (2014): 20; Punktacja MNiSW (2023): 40. Doktorantka – ponownie jako pierwsza autorka – wniosła kluczowy wkład merytoryczny. Artykuł ten kontynuuje tematykę badania żywotności nasion w odmiennych warunkach przechowywania.

3) Agacka-Mołdoch M. et al. (2015) – “Mapping quantitative trait loci determining seed longevity in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.).” *Euphytica* 202(3): 479–486.

IF 2015: 1,89; IF (2023): 1,6. Punktacja MNiSW (2015): 30; Punktacja MNiSW (2023): 70. Doktorantka jest pierwszym autorem, co świadczy o jej głównej roli w realizacji eksperymentu i przygotowaniu publikacji. Praca ta stanowi pierwsze doniesienie o mapowaniu QTL dla cechy długości życia nasion u tytoniu.

4) Agacka-Mołdoch M. et al. (2021) – “QTL analysis of seed germination traits in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.).” *Journal of Applied Genetics* 62(3): 441–444.

IF 2021: 3,24; IF (2023): 2,0. Punktacja MEiN (2021): 140. Doktorantka jest pierwszym autorem także i tej publikacji, będącej zwieńczeniem cyklu badań – drugim etapem mapowania QTL z wykorzystaniem innej populacji tytoniu.

Wszystkie powyższe czasopisma mają charakter międzynarodowy i są recenzowane, a uzyskane w nich publikacje świadczą o wysokiej jakości i nowości naukowej badań Doktorantki. Sumaryczny Impact Factor czterech prac wynosi 6,63 (według IF z roku publikacji). Należy podkreślić, że mgr Monika Agacka-Mołdoch jest pierwszym autorem we wszystkich czterech pracach, co jednoznacznie wskazuje na jej wiodący wkład w planowanie i realizację badań oraz przygotowanie publikacji. Z oświadczeń współautorów (załączonych do dysertacji) wynika, że Doktorantka uczestniczyła we wszystkich etapach powstawania tych artykułów – od opracowania koncepcji i metodyki, przez wykonanie eksperymentów i analizę danych, po napisanie manuskryptu i odpowiedzi na recenzje. Tym samym nie ma wątpliwości co do samodzielności i kluczowej roli Doktorantki w uzyskanych rezultatach.

Ocena merytoryczna

Znaczenie podjętego problemu badawczego nie budzi wątpliwości i należy do istotnych zagadnień w dziedzinie nauk rolniczych. Żywotność nasion to cecha kluczowa z punktu widzenia zachowania zasobów genetycznych roślin oraz przechowywania i użytkowania nasion w rolnictwie. Nasiona stanowią podstawowy materiał siewny – ich zdolność do kiełkowania po długim przechowywaniu warunkuje efektywność produkcji roślinnej, a także umożliwia gromadzenie i ochronę różnorodności genetycznej *ex situ* tj. w bankach genów. W dobie intensywnej ochrony bioróżnorodności oraz rozwoju biotechnologii roślinnej, umiejętność długoterminowego przechowywania nasion bez utraty ich żywotności ma znaczenie strategiczne. Dotyczy to zwłaszcza kolekcji nasion gatunków uprawnych i ich dzikich krewnych, które stanowią materiał zapasowy dla

hodowli roślin i badań naukowych. Tytoń, choć znany głównie jako roślina przemysłowa używana do produkcji wyrobów tytoniowych, jest także ważnym obiektem badań genetycznych oraz gatunkiem modelowym dla różnych zastosowań np. jako „zielony bioreaktor” do wytwarzania farmaceutyków. W IUNG-PIB oraz współpracujących placówkach zgromadzono bogate zasoby genowe rodzaju *Nicotiana* (tytoniu szlachetnego i pokrewnych gatunków, m.in. machorki), które wymagają długotrwałej ochrony. Badania mgr Moniki Agackiej-Mołodach wychodzą naprzeciw tym potrzebom – dotyczą określenia trwałości nasion tytoniu w różnych warunkach przechowalniczych oraz zrozumienia genetycznych uwarunkowań tej cechy. Jest to problem badawczy o dużym znaczeniu praktycznym i poznawczym: od jego rozwiązania zależą m.in. optymalne strategie prowadzenia banków genów tj. jak długo i w jakich warunkach można przechowywać nasiona bez utraty ich wartości siewnej, oraz możliwości doskonalenia odmian pod kątem lepszej zdolności przechowalniczej nasion.

Zakres i cele pracy zostały jasno zdefiniowane we wstępie rozprawy. Sformułowano hipotezę, że żywotność nasion wybranych gatunków *Nicotiana* zależy zarówno od warunków przechowywania, jak i od uwarunkowań genetycznych. Głównym celem było ocenienie żywotności nasion *Nicotiana tabacum* i *Nicotiana rustica* przechowywanych w zróżnicowanych warunkach oraz zidentyfikowanie regionów genetycznych (QTL) wpływających na długość życia nasion tytoniu. Cel ten rozbito na dwa szczegółowe zadania:

- 1) eksperymentalna ocena żywotności nasion tytoniu przechowywanych od 2 do nawet 39 lat w różnych bankach genów (w Polsce i Niemczech) przy odmiennych temperaturach i wilgotnościach,
- 2) mapowanie QTL warunkujących długość życia nasion z wykorzystaniem dwóch niezależnych populacji mapujących tytoniu.

Taki plan badawczy świadczy o kompleksowym podejściu Doktorantki do tematu – łączącym badania doświadczalne (fizjologiczne) nad starzeniem się nasion z nowoczesnymi badaniami genetycznymi. Należy podkreślić, że zakres pracy jest szeroki i ambitny, obejmując zarówno testy żywotności nasion poddanych długotrwałemu przechowywaniu (rzadko spotykane na taką skalę, bo wymagające dostępu do nasion z kolekcji banków genów), jak i zaawansowane analizy genetyczne (mapowanie ilościowych cech genetycznych). Zaplanowane zadania zostały w pełni zrealizowane przez Doktorantkę, co znajduje odzwierciedlenie w zawartości poszczególnych rozdziałów wyników i dołączonych publikacji.

Zastosowana metodyka badawcza była adekwatna do postawionych celów i stoi na wysokim poziomie. W części doświadczalnej (ocena żywotności nasion) wykorzystano klasyczne testy kiełkowania nasion zgodnie z międzynarodowymi standardami. Jako kryterium żywotności przyjęto procent normalnie skielkowanych nasion po standardowym okresie kiełkowania, co jest powszechnie uznawanym wskaźnikiem jakości nasion. Co ważne, w celu przyspieszenia oceny potencjalnej długości życia nasion zastosowano test kontrolowanego/przyspieszonego starzenia polegający na przechowywaniu nasion przez krótki czas w podwyższonej temperaturze i wilgotności, a następnie sprawdzeniu ich zdolności kiełkowania. Metoda ta jest uznawana za substytut naturalnego starzenia nasion i pozwala prognozować względną długowieczność różnych próbek nasion bez konieczności wieloletniego przechowywania. Jej wykorzystanie świadczy o znajomości nowoczesnych technik badania żywotności nasion przez Doktorantkę. Również analizy statystyczne wyników zostały dobrane właściwie – np. do opisu danych z doświadczeń długoletniego przechowywania użyto modelowania logistycznego do wyznaczenia prawdopodobieństwa utrzymania określonego poziomu kiełkowania w czasie. To podejście ilościowe umożliwiło porównanie żywotności nasion w różnych warunkach w sposób obiektywny i wynikający z danych, co wzmacnia wiarygodność wniosków.

W części genetycznej rozprawy zastosowano standardowe, ale wymagające metody mapowania QTL: wykorzystano dwie populacje segregujące tytoniu o zróżnicowanym tle genetycznym. Pierwsza to populacja linii wsobnych (RIL) pochodząca z krzyżówki odmian Florida 301 × Hicks (122 linii), a druga – populacja podwojonych haploidów (DH) z krzyżówki Beinhart-1000 × Hicks (118 linii). Wybór dwóch różnych kombinacji rodzicielskich zwiększył moc i zakres analizy QTL, pozwalając na weryfikację wyników oraz poszukiwanie *loci* w odmiennych uwarunkowaniach genetycznych. Co ważne, choć pierwotnie obie populacje stworzono z myślą o mapowaniu regionów genomu powiązanych z odpornością na zgniliznę pierścieniową podstawy łodygi, to wykazywały się one także zróżnicowaniem cech związanych z żywotnością nasion. Genotypowanie linii oraz konstrukcja map sprzężeń zostały wykonane we współpracy z renomowanym ośrodkiem zagranicznym tj. IPK Gatersleben w Niemczech. Do identyfikacji QTL zastosowano nowoczesne oprogramowanie ICIMapping 4.2 i metodę integracyjnego złożonego mapowania interwałowego. Dzięki czemu możliwe było wykrycie zarówno

efektów addytywnych, jak i interakcji epistatycznych między *loci*. Zastosowano odpowiednie progi LOD oraz analizowano procent wyjaśnianej zmienności (PVE) przez poszczególne QTL, co umożliwia ocenę ich istotności biologicznej. Całość metodologii genetycznej jest opisana rzetelnie i odpowiada współczesnym standardom badań QTL w naukach rolniczych. Można stwierdzić, że Doktorantka opanowała zaawansowane techniki analizy genetycznej i umiejętnie je zastosowała w praktyce.

Przechodząc do wyników i ich analizy – są one przedstawione szczegółowo w rozprawie oraz zostały należycie omówione w dołączonych publikacjach. W mojej ocenie, Doktorantka osiągnęła wszystkie zamierzone cele badawcze, a uzyskane wyniki w pełni potwierdzają postawioną hipotezę o wpływie zarówno czynników środowiskowych, jak i genetycznych na żywotność nasion tytoniu.

Poniżej przywołam najważniejsze rezultaty pracy, świadczące o wartości merytorycznej rozprawy. Badania porównawcze przeprowadzone na nasionach tytoniu przechowywanych w różnych instytucjach i warunkach wykazały olbrzymie znaczenie temperatury i wilgotności dla zachowania zdolności kiełkowania. Na podstawie długoletnich danych eksperymentalnych stwierdzono m.in., że obniżenie temperatury przechowywania z +20°C (warunki zbliżone do pokojowych) do 0°C wydłuża okres przechowywalności nasion z około 10 do 30 lat, a dalsze obniżenie do -15/-18°C (standardowe warunki mroźni) pozwala zachować ich żywotność nawet ponad 50 lat. To niezwykle istotny wniosek praktyczny: potwierdzono ilościowo, że obniżenie temperatury przechowywania nasion tytoniu o każdy kolejny zakres temperatury znacząco wydłuża ich trwałość. Wyniki te są zgodne z ogólną wiedzą o przechowywaniu nasion tj. regułą Harringtona, ale tutaj po raz pierwszy zostały empirycznie potwierdzone dla nasion tytoniu. Co więcej, wykazano, że także wilgotność względna powietrza podczas przechowywania odgrywa krytyczną rolę – np. porównanie dwóch kolekcji nasion tytoniu przechowywanych przez 11–12 lat w warunkach niekontrolowanych wykazało drastyczne różnice w zachowaniu żywotności w zależności od miejsca: w jednym laboratorium (Puławy) po 11 latach żadne nasiona nie osiągały już 75% kiełkowania, podczas gdy w drugim (Gatersleben) około 40% próbek wciąż przekraczało ten próg. Przyczyną okazały się warunki – w pierwszym miejscu nasiona narażone były na wyższą wilgotność (ok. 77% RH) niż w drugim (50% RH), co przy jednakowej temperaturze skutkowało szybszym starzeniem się nasion. Ten eksperyment dowodzi, że nawet w podobnej temperaturze, różnice w wilgotności mogą kilkukrotnie skrócić lub wydłużyć żywotność nasion, co jest cenną wskazówką dla praktyki (konieczność utrzymywania niskiej wilgotności nasion w magazynie). Interesujące jest również spostrzeżenie, że wielkość nasion, która mogłaby warunkować zawartość substancji zapasowych czy tempo oddychania, nie miała istotnego wpływu na ich żywotność w badanych warunkach. Wskazuje to, że decydujące są czynniki środowiskowe oraz genotyp, a nie cechy fenotypowe takie jak rozmiar nasion. Podsumowując ten segment wyników: Doktorantka dostarczyła unikatowych danych dotyczących długoterminowego przechowywania nasion tytoniu. Wyniki te mają dużą wartość aplikacyjną – pozwalają zoptymalizować warunki przechowywania oraz zaplanować częstotliwość regeneracji materiałów w kolekcjach.

Drugim filarem rozprawy są badania genetyczne, które po raz pierwszy u tytoniu identyfikują regiony genomowe wpływające na długość życia nasion. W pierwszej populacji (Florida 301 × Hicks) analizowano cztery cechy związane z kiełkowaniem nasion, zarówno dla nasion świeżych, jak i poddanych kontrolowanemu starzeniu: całkowity odsetek nasion, które wykiełkowały (TG), odsetek normalnych siewek (NG), czas do uzyskania 50% kiełkowania (T50) oraz pole powierzchni pod krzywą kiełkowania (AUC). Tak zdefiniowane wskaźniki obejmują zarówno poziom żywotności, jak i wigor kiełkowania (szybkość i zdolność do pełnego skiełkowania), co daje kompleksowy obraz badanej cechy. Wyniki mapowania dla tej populacji opublikowane w 2015 r. wskazały cztery istotne QTL zlokalizowane w czterech odrębnych grupach sprzężeń (chromosomach). Każdy z tych QTL odpowiadał za inną składową fenotypu kiełkowania, przy czym korzystne allele pochodziły od obu rodziców, czyli zarówno odmiana Hicks, jak i Florida 301 wносиły geny pozytywnie wpływające na daną cechę. Najsilniejszy efekt wykazano dla QTL zwiększającego całkowite kiełkowanie (TG) na chromosomie 8/18, pochodzącym od odmiany Hicks – co ciekawe, ujawniał się on zarówno w warunkach kontrolnych, jak i po starzeniu, wskazując na główny gen stabilnie warunkujący zdolność kiełkowania. Z kolei dla cechy szybkości kiełkowania (AUC, T50) po starzeniu zidentyfikowano korzystny *allele* od odmiany Florida 301 na chromosomie 6, który ujawniał się tylko po starzeniu (w warunkach kontrolnych nie był istotny). Lokalizacja tego QTL na chromosomie 6 okazała się zbieżna z wcześniej znalezionym *locus* odporności na zgniliznę pierścieniową podstawy łodygi, co Doktorantka dyskutuje jako potencjalne interesujące powiązanie między odpornością na stres biotyczny a trwałością nasion. Wyniki te dowodzą, że genetyczna kontrola żywotności nasion u tytoniu ma charakter ilościowy i współwarunkuje ją kilka *loci* o stosunkowo niewielkich

efektach, choć jeden z nich (na 8/18) wydaje się mieć znaczenie większe (główny efekt na zdolność kiełkowania). Już ten pierwszy eksperyment stanowił oryginalny wkład w naukę – była to pierwsza na świecie identyfikacja QTL dla cech związanych z żywotnością nasion w rodzaju *Nicotiana*.

Druga seria badań QTL opublikowana w 2021 r. poszerzyła i uzupełniła te wyniki. Wykorzystano nową populację DH (Beinhart-1000 × Hicks) oraz skupiono się na analogicznych cechach kiełkowania (TG, NG, T50, AUC) mierzonych dla nasion kontrolnych i poddanych przyspieszonemu starzeniu. Dzięki temu uzyskano niezależną weryfikację poprzednich ustaleń oraz możliwość wykrycia dodatkowych QTL specyficznych dla innego materiału genetycznego. Wyniki okazały się bardzo interesujące - w tej populacji zidentyfikowano większą liczbę QTL, łącznie na 11 różnych chromosomach (grupach sprzężeń) tytoniu. Świadczy to, że w zależności od kombinacji rodzicielskiej i puli genowej mogą ujawniać się różne geny wpływające na tę złożoną cechę. W szczególności, w populacji Beinhart × Hicks znaleziono łącznie 23 QTL o efektach addytywnych. Każda z analizowanych cech miała przypisane po kilka QTL, często specyficznych dla warunków kontrolnych lub eksperymentalnych. Co istotne, niektóre QTL nakładały się na siebie – np. QTL dla AUC i T50 w warunkach kontrolowanych znajdowały się w tych samych regionach co odpowiednie QTL dla tych cech po przyspieszonym starzeniu, choć często efekt alleli odwracał się (allel korzystny pochodził od innego rodzica w warunku stresu vs kontrolnych). Taka interakcja genotyp × środowisko jest zgodna z oczekiwaniem, że geny korzystne dla początkowej żywotności nie zawsze są tymi samymi, które odpowiadają za dłuższe zachowanie żywotności – co Doktorantka słusznie zauważyła. Ponadto dokonano analizy epistazy – wykryto szereg par QTL wchodzących ze sobą w interakcje nieaddytywne, co dodatkowo podkreśla złożony, poligeniczny charakter badanej cechy. Sumarycznie, badania QTL przeprowadzone przez Doktorantkę wzbogaciły wiedzę o genetyce tytoniu: dowiedzieliśmy się, które regiony chromosomów mogą zawierać geny związane z trwałością nasion. Choć każde z wykrytych pojedynczych *loci* wyjaśnia umiarkowany odsetek zmienności, to łącznie pozwalają one zrozumieć, dlaczego obserwujemy różnice między odmianami. Nowością naukową jest zwłaszcza wskazanie konkretnych segmentów genomu tytoniu wpływających na żywotność nasion – wcześniej takie informacje istniały dla kilku innych gatunków (rzodkiewnik, ryż, jęczmień, soja, itp.), ale nie dla tytoniu. W ten sposób rozprawa wypełniła lukę w wiedzy z zakresu nasiennictwa i genetyki tytoniu. Co więcej, uzyskane wyniki stanowią podstawę do ewentualnej identyfikacji genów kandydackich odpowiadających za trwałość nasion w przyszłości (np. poprzez analizę sekwencji w regionach QTL).

Interpretacja i dyskusja wyników przeprowadzona przez Doktorantkę jest na wysokim poziomie merytorycznym. Mgr Monika Agacka-Mołdoch wykazała się dobrą znajomością literatury przedmiotu – zarówno z zakresu nasiennictwa, jak i genetyki – co widać w rozdziale „Dyskusja” oraz w treści publikacji. Wyniki własne zostały porównane z doniesieniami innych autorów. Na przykład, Doktorantka odniosła swoje dane dotyczące trwałości nasion do klasycznej teorii Fishera i Robertsa, modeli matematycznych starzenia nasion i do wyników dla innych gatunków. Wspomina, że zachowanie nasion tytoniu w obniżonych temperaturach jest podobne jak nasion wielu innych roślin – co wzmacnia wiarygodność wniosków. Jednocześnie zauważa pewne szczególne obserwacje, jak choćby brak wpływu wielkości nasion czy też różnice między gatunkami *N. tabacum* a *N. rustica*. Z dysertacji wynika, że nasiona machorki przechowują się nieco inaczej niż tytoniu szlachetnego (np. mogą wykazywać nieco odmienny początkowy poziom kiełkowania czy dynamikę utraty żywotności), choć główne trendy są zbliżone. Takie porównanie jest cennym dodatkiem, poszerzającym zakres wniosków (pokazuje, że obserwowane zjawiska nie dotyczą wyłącznie jednego gatunku, ale być może całego rodzaju *Nicotiana*).

W dyskusji wyników mapowania QTL Doktorantka odnosi się do badań QTL w innych gatunkach, co jest bardzo istotne. Zwraca uwagę, że identyfikacja QTL dla długowieczności nasion była wcześniej dokonana m.in. u *Arabidopsis* (gen *DOG1* i inne) czy zbóż (ryż, jęczmień), i porównuje ogólnie swoje wyniki z literaturą przedmiotu (np. potwierdzając, że cecha jest poligeniczna i podatna na wpływy środowiska w każdym z badanych organizmów). Dyskutuje także potencjalne mechanizmy biologiczne leżące u podstaw długowieczności nasion – wspomina o zmianach biochemicznych i molekularnych podczas starzenia (degradacja DNA, gromadzenie uszkodzeń oksydacyjnych, utrata integralności błon itp.). Chociaż jej własne badania nie dotyczyły bezpośrednio poziomu molekularnego, to świadczy to o tym, że Doktorantka rozumie kontekst swoich wyników w szerszym ujęciu i potrafi wskazać możliwe kierunki dalszych dociekań.

Należy również docenić, że w rozprawie omówiono znaczenie praktyczne uzyskanych wyników. W podsumowaniu pracy Doktorantka słusznie podkreśla, że wyniki posłużą bankom genów do optymalizacji procedur przechowywania nasion np. rekomendując utrzymywanie możliwie najniższych temperatur

składowania dla kolekcji tytoniu, ponieważ znacząco wydłuża to okres między kolejnymi regeneracjami nasion. Również firmy nasienne i hodowcy mogą odnieść korzyść z tych badań – np. wiedząc, które odmiany zachowują dłużej zdolność kiełkowania, można odpowiednio planować produkcję nasion i dystrybucję nasion tytoniu na potrzeby upraw lub badań. Identyfikacja QTL otwiera możliwość selekcji wspomaganej markerami (z ang. Marker Assisted Selection – w skrócie MAS) lub w dalszej perspektywie hodowli odmian tytoniu o podwyższonej zdolności przechowalniczej nasion – cecha ta mogłaby być przydatna zwłaszcza w hodowli długotrwałej (gdy nasiona są przechowywane przez wiele lat między pokoleniami hodowlanymi). Choć w uprawie tytoniu długość życia nasion nie stanowiła dotąd kluczowego celu hodowlanego, to w naukach nasiennych jako takich ma duże znaczenie i tytoń może stać się ciekawym modelem do badań porównawczych z innymi gatunkami.

Reasumując, wartość merytoryczna rozprawy jest bardzo wysoka. Praca wnosi oryginalne wyniki do nauki – zarówno w obszarze agronomii/nasiennictwa (empiryczne dane o żywotności nasion tytoniu w różnych warunkach), jak i genetyki roślin (pierwsza mapa QTL dla cechy związanej z żywotnością nasion u tytoniu). Uważam, że nowość naukowa jest bezsprzeczna: Doktorantka jako pierwsza zidentyfikowała konkretne loci genetyczne warunkujące tę cechę u tytoniu, a także dokonała unikatowego porównania warunków przechowywania nasion w trzech kolekcjach. Jej badania znacząco poszerzają wiedzę o mechanizmach utraty żywotności nasion i sposobach jej ograniczania. Ponadto całość pracy świadczy o dużej samodzielności, dojrzałości badawczej i umiejętności analitycznego myślenia Doktorantki. Mgr Monika Agacka-Mołodoch wykazała się zdolnością do zaplanowania i realizacji szeroko zakrojonego eksperymentu, do współpracy międzynarodowej, a także do krytycznej analizy uzyskanych wyników na tle literatury. Jej rozprawa z powodzeniem łączy różne dyscypliny tj. nasiennictwo, genetykę, biometrię, co świadczy o wszechstronności badawczej Doktorantki.

Uwagi i sugestie

Pozytywna ocena pracy nie wyklucza drobnych uwag i pytań, które kieruję do Doktorantki w celu dalszej dyskusji i ewentualnego rozwinięcia tematu w przyszłości:

- 1) Praca wskazała liczne QTL związane z żywotnością nasion. Czy Doktorantka rozważała identyfikację konkretnych genów kandydackich leżących w tych regionach? Być może w obszarach tych QTL znajdują się znane geny zaangażowane w mechanizmy starzenia nasion (np. geny związane z syntezą oligosacharydów, białek LEA, enzymów naprawy DNA itp.). W przyszłości warto rozważyć analizy genomiczne (np. sekwencjonowanie regionów QTL lub badania ekspresji genów podczas starzenia nasion) w celu zidentyfikowania mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za obserwowane efekty QTL. Takie podejście pozwoliłoby przejść od poziomu loci do poziomu genów i procesów biologicznych, pogłębiając zrozumienie zjawiska.
- 2) Badania objęły dwa gatunki – *N. tabacum* i *N. rustica*. Czy zaobserwowano istotne różnice w trwałości nasion między tymi gatunkami? Jeśli tak, to jakie czynniki mogą to powodować? W pracy sygnalizowano, że materiał *N. rustica* również utracił żywotność po długim przechowywaniu, ale czy np. nasiona machorki były bardziej czy mniej żywotne od tytoniu szlachetnego w tych samych warunkach? Wyjaśnienie tego aspektu poszerzyłoby interpretację wyników – ewentualne różnice mogłyby wskazać na gatunkowe uwarunkowania długowieczności nasion (np. związane z biochemią nasion tych gatunków).
- 3) W dyskusji wspomniano o potencjalnym wpływie warunków uprawy roślin matecznych na jakość i żywotność nasion. To bardzo ciekawy wątek. Czy w zebranych danych zauważono ślady takich efektów? Np. nasiona zebrane w różnych latach bądź różnych lokalizacjach mogły mieć odmienny stan wyjściowy. Być może warto w przyszłości przeprowadzić eksperyment kontrolowany, w którym ten sam genotyp tytoniu jest rozmnażany w różnych warunkach środowiskowych (różne temperatury, nawożenie, stresy) i dopiero testowany pod kątem żywotności – aby wyodrębnić wpływ środowiska *in vivo* na długowieczność nasion. Tego typu badania uzupełniłyby obecną pracę, która skupiała się głównie na wpływie warunków *ex situ*.
- 4) Czy Doktorantka widzi możliwość, by uzyskane wyniki QTL już teraz wykorzystać w praktyce hodowlanej tytoniu? Innymi słowy, czy znane są odmiany lub zasoby genowe tytoniu posiadające „lepsze” allele QTL i czy można by je wykorzystać do stworzenia linii o zwiększonej żywotności nasion? To pytanie wybiegające w przyszłość – być może wymagałoby wdrożenia markerów molekularnych, jeśli te są dostępne dla tytoniu. Jednak zważywszy na dużą praktyczną wartość cechy

dla banków genów, warto zastanowić się, jak transferować tę wiedzę do praktyki.

Powyższe uwagi nie umniejszają osiągnięć Doktorantki, a jedynie wskazują dalsze kierunki badań, jakie nasuwają się po lekturze rozprawy. Świadczą one o tym, że podjęta tematyka jest rozwojowa i stawia kolejne pytania – co jest typowe dla dobrej pracy doktorskiej, która otwiera nowe perspektywy badawcze.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska mgr Moniki Agackiej-Mołdoch pt. „Żywotność nasion tytoniu w zależności od warunków przechowywania i mapowanie QTL kontrolujących tę cechę” jest pracą dojrzałą, rzetelną i oryginalną, wnoszącą istotny wkład do dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Praca spełnia wszystkie wymagania ustawy oraz oczekiwania stawiane rozprawom doktorskim – stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego problemu naukowego i dowodzi, że Doktorantka posiada gruntowną wiedzę teoretyczną oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Wszystkie elementy rozprawy – od przemyślanego przeglądu literatury, poprzez poprawnie wykonane eksperymenty i analizy, aż po krytyczną interpretację wyników – świadczą o wysokich kompetencjach badawczych Doktorantki. Nowość naukowa pracy przejawia się zarówno w unikalnych danych empirycznych, jak i w pierwszym na świecie mapowaniu QTL związanych z żywotnością nasion u tytoniu. Wartość praktyczna uzyskanych wyników jest nie do przecenienia dla zachowania zasobów genowych oraz potencjalnie dla hodowli roślin.

Nie mam zastrzeżeń co do samodzielności i oryginalności rozprawy – przedstawione treści są wynikiem prac wykonanych przez mgr Monikę Agacką-Mołdoch, co potwierdza jej znaczący udział we wszystkich publikacjach składających się na dysertację. Praca jest napisana na wysokim poziomie merytorycznym i stylistycznym, zaś zaprezentowane wyniki zostały już pozytywnie zweryfikowane przez międzynarodowe środowisko naukowe (publikacje w recenzowanych czasopismach).

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Moniki Agackiej-Mołdoch pt.: „*Żywotność nasion tytoniu w zależności od warunków przechowywania i mapowanie QTL kontrolujących tę cechę*” spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zmianami). Biorąc pod uwagę powyższe, przedkładam wniosek do Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach o dopuszczenie mgr Moniki Agackiej-Mołdoch do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w zakresie rolnictwo i ogrodnictwo. Jednocześnie wnioskuję do Rady Naukowej IUNG-PIB o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą. Wszystkie przedstawione osiągnięcia naukowe i wyniki badań dowodzą, że Pani Monika Agacka-Mołdoch posiada kwalifikacje i umiejętności wymagane od doktora nauk rolniczych. Serdecznie gratuluję Doktorantce uzyskanych rezultatów i jestem przekonana, że będą one stanowić solidną podstawę jej dalszej kariery naukowej.

Dr hab. Maja Boczkowska

Radzików, dnia 14.04.2025 r.