

Prof. dr hab. Wanda Kociuba

Lublin, dn. 07.04.2025 r.

Instytut Genetyki Hodowli

i Biotechnologii Roślin

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

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 promotora prof. dr hab. Teresy Doroszewskiej oraz promotora pomocniczego dr Anny Czubackiej w Zakładzie Hodowli i Biotechnologii Roślin IUNG –PIB w Puławach.

1. Podstawa opracowania recenzji

Recenzja została opracowana w odpowiedzi na pismo Z-cy Przewodniczącego Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach prof. dr hab. Beaty Feledyn-Szewczyk w sprawie Uchwały nr 7/IUNG-PIB/2025 Rady Naukowej Instytutu z dnia 20.01.2025 r. W piśmie zamieszczono informację o wyznaczenie mnie na recenzenta w postępowaniu nadania stopnia doktora i prośbę o wykonanie recenzji rozprawy doktorskiej mgr Moniki Agackiej-Mołdoch. Przedstawiona rozprawa doktorska wchodzi w zakres dziedziny nauk rolniczych, dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo.

2. Znaczenie podjętej tematyki badawczej

Hodowla roślin ma na celu genetyczne doskonalenie roślin uprawnych, co pozwala na otrzymywaniu odmian plenniejszych, lepiej dostosowanych do zmieniających się czynników środowiska o lepszych parametrach jakościowych i zdrowotnych. Wiąże się to z efektywnym wykorzystaniem potencjału genetycznego dla otrzymywania nowych odmian jako postępu hodowlanego. Niewątpliwie duże znaczenie ma gromadzenie i przechowywanie zasobów genowych roślin użytkowych w postaci odmian rolniczych jak i odmian botanicznych dla

zachowania bioróżnorodności. Tak zgromadzona różnorodność genetyczna służy głównie hodowli nowych odmian jako źródeł genetycznych dla wielu cech rolniczych. Zgromadzone materiały muszą spełniać zatem kryterium nasion żywych zdolnych do kiełkowania, co wiąże się z odpowiednim ich przechowywaniem dla utrzymania odpowiedniej żywotności i zapobieganiu ich degradacji. Odpowiednia żywotność nasion zgromadzonych obiektów w bankach genów zależy od właściwości genetycznych oraz warunków przechowywania.

Doktorantka wraz ze współautorami publikacji przedstawionych jako opracowanie rozprawy doktorskiej podjęli badania dotyczące oceny zasobów genowych rodzaju *Nicotiana* pod względem zróżnicowania żywotności nasion w zależności od długości i warunków przechowywania nasion. W badaniach dotyczących oceny żywotności nasion uwzględniono czynniki genetyczne poprzez identyfikację regionów QTL warunkujących starzenie się nasion. Monitorowanie żywotności obiektów utrzymywanych w bankach genów jest jednym z podstawowych elementów ich funkcjonowania, wymaga to wykonywanie testów zdolności kiełkowania nasion oraz ich regenerację. Zatem informacja dotycząca okresu żywotności nasion jak i czynników genetycznych wpływających na tę cechę jest bardzo cenna i przydatna dla banków genów, hodowców, firm nasiennych i rolników.

3. Ocena formalna rozprawy doktorskiej.

Podstawą rozprawy doktorskiej jest cykl czterech spójnych tematycznie publikacji zgodnych z tytułem rozprawy doktorskiej:

1. Agacka M., Depta A., Börner M., Doroszevska T., Hay F.R., Börner A. 2013. Viability of *Nicotiana* spp. Seeds stored under ambient temperature. *Seed Science and Technology*, 41:474-478; doi:10.15258/sst.2013.41.3.15 punktacja MNiSW: 40 pkt. IF:0,89
2. Agacka M., Laskowska D., Doroszevska T., Hay F.R., Börner A. 2014. Longevity of *Nicotiana* seeds conserved at low temperatures in ex genebanks. *Seed Science and Technology*, 42, 355-362, doi:10.15258/sst.2014.42.3.05 punktacja MNiSW: 40 pkt. IF: 0,61
3. Agacka-Mołodoch M., Nagel M., Doroszevska T., Lewis R.S., Börner A. 2015. Mapping quantitative trait loci determining seed longevity in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) *Euphytica*, 202:479, doi: 10.1007/s10681-015-1355-x. punktacja MNiSW: 70 pkt. IF: 1,89

4. Agacka-Mołdoch M., Rehman Arif M.A., Lohwasser U., Doroszevska T., Lewis R.S., Börner A. 2021 QTL analysis of seeds germination traits in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Journal of Applied Genetcs, 62:441-444, doi: 10.1007/s13353-021-006236
punktacja MNiSW: 140 pkt. IF: 3,24

Przedstawienie rozprawy doktorskiej w oparciu o cztery opublikowane prace jest zgodne z Ustawą– Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz. U. z 2023r.,poz.742, oraz Regulaminem Rady Naukowej IUNG-PIB (Uchwała nr 13/2018z dnia 27 marca 2018r.oraz Uchwała nr.86/2019 z dnia 18 września 2019 r). Suma punktów za ww. publikacje według MNiSW po 2019 roku wynosi 290, a sumaryczny Impact Factor zgodnie z rokiem publikacji wynosi: 5,34. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych, takich jak: Euphytica, Journal of Applied Genetcs, Seed Science and Technology. Treść artykułów naukowych została zamieszczona w rozdziale 13 rozprawy doktorskiej. Przedstawione publikacje są współautorskie, należy jednak podkreślić, że we wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. W rozdziale 14 zamieszczono oświadczenie autorów w tym Doktorantki z których wynika, że Jej wkład w ich powstawanie był bardzo znaczący i wynosił od 65 do 70 %. Doktorantka miała więc wysoki udział na wszystkich etapach powstawania publikacji tj. wykonywania testów kiełkowania, analizie i opracowaniu wyników badań, napisanie manuskryptu. W związku z powyższym znaczący udział Doktorantki w powstawanie tych publikacji nie budzi zastrzeżeń.

Rozprawa doktorska składa się z poszczególnych wyraźnie wyodrębnionych rozdziałów i podrozdziałów, których układ tworzy spójną, logiczną całość odpowiadającą hipotezie i celowi badań. Dwie prace włączone do opracowania rozprawy doktorskiej dotyczyły oceny żywotności nasion zasobów genowych rodzaju *Nicotiana* przechowywanych w zróżnicowanej temperaturze w różnych bankach genów, dwie pozostałe publikacje przedstawiają badania dotyczące identyfikację regionów genetycznych powiązanych z żywotnością nasion. W rozdz.2 „**Wstęp**” Doktorantka przybliżyła problematykę której dotyczy rozprawa doktorska odnosząc się do znaczenia roślinnych zasobów genowych, potrzeby ich gromadzenia i przechowywania jako ważnego aspektu banku genów. Doktorantka odniosła się także do problemów związanych z monitorowaniem żywotności nasion obiektów utrzymywanych w bankach genów. Informacja o żywotności nasion może być wykorzystana przy ustaleniu okresu ich regeneracji. Jak podkreśliła Doktorantka nieliczne są badania które dotyczą problematyki żywotności nasion rodzaju *Nicotiana*, a ich żywotność podobnie jak i innych gatunków, w dużej

mierze zależy od warunków przechowywania. W rozdz. 3 „**Hipoteza i cel badań**” Autorka przedstawiła hipotezę, która zakłada że w obrębie rodzaju *Nicotiana* występuje duże zróżnicowanie gatunkowe żywotności nasion w zależności od warunków przechowywania oraz czynników genetycznych. Przedstawiony zatem cel badań obejmował ocenę żywotności nasion wybranych obiektów z gatunków *Nicotiana tabacum* i *Nicotiana rustica* w zróżnicowanych warunkach temperatury i wilgotności przechowywanych przez okres od 2 do 39 lat w banku genów: IPK w Niemczech, IHAR-PIB w Radzikowie i IUNG-PIB w Puławach. Identyfikację regionów genetycznych warunkujących żywotność nasion przeprowadzono z wykorzystaniem dwóch populacji mapujących. Rozdział 4 „**Przegląd literatury**” został podzielony na 5 podrozdziałów: 4.1 „**Rola i utrzymanie roślinnych zasobów genowych**”, w którym Autorka przedstawiła potrzebę zachowania bioróżnorodności stanowiącej ogromny potencjał w tworzeniu nowych odmian, co przekłada się na korzyści zarówno ekonomiczne jak i środowiskowe. Podkreśliła, że głównym zadaniem banku genów jest utrzymywanie nasion w stanie żywym, co jest związane z warunkami ich przechowywania. W podrozdziale 4.2 „**Zasoby genowe rodzaju *Nicotiana***” Doktorantka podaje (tab.1), że zasoby genowe *Nicotiana* zajmują znaczącą liczebność w wielu światowych bankach genów, w tym również w Polsce. Zwróciła uwagę na kolekcję zgromadzoną w IUNG-PIB w Puławach jako najstarszą, pochodzącą z lat dwudziestych ubiegłego stulecia. Zgromadzona różnorodność pozwoliła dotychczas wykorzystać ich w pracy hodowlanej jako źródła genetyczne odporności na choroby, cytoplazmatycznej męskiej sterility, a w pracach badawczych jako rośliny modelowe w badaniach fitopatologicznych i transformacji genetycznej. Podrozdz.4.3 „**Żywotność i wigor nasion**” przedstawia terminologię i stosowane testy do oceny żywotności i wigoru nasion rekomendowane przez ISTA oraz FAO, a podstawowym parametrem w ocenie żywotności nasion ma zdolność kiełkowania, która określa wartość siewną nasion jak i ocenę przechowanego materiału w banku genów. W podrozdziale 4.4 „**Długość życia nasion w zależności od warunków przechowywania**” Autorka przedstawia badania potwierdzające zależność długotrwałego przechowywania od temperatury i wilgotności powietrza oraz zmienność w obrębie badanych genotypów. Proces starzenia się nasion jest procesem złożonym, który jest związany z procesami molekularnymi, biochemicznymi, fizjologicznymi oraz metabolicznymi zachodzącymi w trakcie ich przechowywania. Interesujące są najnowsze badania molekularne potwierdzające zmiany w strukturze DNA i RNA. Podrozdz.4.5 „**Identyfikacja QTL**” przedstawia liczne badania dotyczące genetycznych podstaw żywotności nasion wielu roślin użytkowych, natomiast dane dotyczące genomu tytoniu uprawnego pochodzą z ostatnich lat badań i są one nieliczne, być może nie były wcześniej

podejmowane ze względu na wielkość i złożoność genomu tego gatunku. W literaturze brak danych na temat mapowania QTL związanych z żywotnością nasion tytoniu, jak podaje Autorka było to powodem podjęcia takich badań. W rozdz.5 „**Materiał i metody badawcze**” zamieszczono informacje (tab.2) o badanych obiektów gatunków *Nicotiana tabacum* i *Nicotiana rustica* w zróżnicowanych warunkach przechowywania. Żywotność nasion tytoniu przeprowadzono za pomocą testu kiełkowania zgodnie z wytycznymi Międzynarodowego Związku Oceny Nasion ISTA. Do oceny starzenia się nasion wykorzystano test tzw. kontrolowanego starzenia, oraz dokonano oceny wigoru nasion na podstawie szybkości kiełkowania. Przedstawiona metodyka badań dotyczy także materiału użytego w badaniach genetycznych związanych z mapowaniem genów wpływających na proces żywotności nasion tytoniu. Kolejny rozdz.6 „**Wyniki badań**” zawiera syntetyczny opis wyników badań zamieszczonych w publikacjach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Doktorantka przedstawiła wyniki żywotności nasion w warunkach niekontrolowanych oraz w warunkach kontrolowanej temperatury i wilgotności powietrza. W dalszej części została opisana charakterystyka badanych populacji mapujących oraz przedstawiono wyniki mapowania QTL dla żywotności nasion. Wyniki badań zobrazowane zostały na zamieszczonych w pracy 7 rycinach. W rozdz.7 „**Dyskusja**” Autorka przedstawiła badania zamieszczone w pracy doktorskiej na tle najnowszej literatury, odnoszą się one do wpływu warunków przechowywania na żywotność nasion, głównie temperatury i wilgotności powietrza. Doktorantka odniosła się do najnowszej literatury związanej z identyfikacją QTL w celu wykrycie regionów chromosomowych kontrolujących żywotność nasion oraz nowatorskie prace Autorki dotyczące mapowania QTL w tytoniu. W rozdz. 8 „**Podsumowanie i wnioski**” Doktorantka sformułowała 7 trafnych i interesujących wniosków, które stanowią zwięzłą syntezę podjętych badań zamieszczonych w publikacjach stanowiących rozprawę doktorską. Rozdział 9 „**Literatura**” zawiera wykaz literatury cytowanej w publikacjach składający się ze 153 pozycji, głównie anglojęzycznej. W kolejnych rozdziałach 10,11 Autorka zamieściła streszczenie rozprawy doktorskiej w języku polskim i angielskim. W ostatnich rozdziałach 13 i 14 Doktorantka zamieściła oświadczenia doktoranta i współautorów dotyczące wkładu w przygotowanie publikacji oraz oświadczenie promotora, promotora pomocniczego i autora rozprawy doktorskiej.

Przedłożona rozprawa doktorska w mojej ocenie jest kompletna, a jej układ jest spójny i prawidłowy

4. Ocena merytoryczna rozprawy

Składające się na rozprawę doktorską cztery publikacje są powiązane tematycznie zbiorem badań stanowiących spójną, logiczną całość odnoszącą się do oceny żywotności nasion licznej grupy obiektów rodzaju *Nicotiana* przechowywanych w kontrolowanych warunkach banku genów w KCRZG w Radzikowie oraz IPK Gatersleben Leibniz w Niemczech i przechowywanych w warunkach niekontrolowanych w IUNG-PIB w Puławach. Odpowiednie przechowywanie zasobów genowych roślin użytkowych oraz wiedza na temat ich wartości, zabezpiecza je przed utratą żywotności, pozwala także na wykorzystanie dostępnej różnorodności genetycznej w pracach hodowlanych, jak również w wielu pracach badawczych. Przedstawiony zatem cel badań obejmował ocenę żywotności nasion wybranych obiektów z gatunków *Nicotiana tabacum* i *Nicotiana rustica* przechowywanych w zróżnicowanych warunkach temperatury i wilgotności w w/w bankach genów. Zgodnie z hipotezą badawczą zostały zrealizowane badania żywotności nasion za pomocą testu kiełkowania, określając zdolność kiełkowania jako procentowy udział nasion wytwarzających siewki normalne. Ten parametr ma podstawowe znaczenie przy regeneracji obiektów zgromadzonych w bankach genów, gdyż obiekty o zdolności kiełkowania poniżej 75 % należy poddać regeneracji. Przedstawione wyniki badań potwierdziły duży wpływ temperatury jak i wilgotności powietrza na żywotność nasion w czasie ich przechowywania. Kontrolowane warunki przechowywania zwłaszcza przechowywane w temperaturze -18°C , znacznie wydłużają okres żywotności nasion nawet do ponad 30 lat. Do kompleksowej oceny żywotności nasion tytoniu włączono badania identyfikacji rejonów QTL. W tym celu wykorzystano 2 populacje mapujące, których wcześniej użyto do identyfikacji *loci* warunkujących odporność na choroby, wyniki tych badań zostały opisane w publikacji 3 i 4. Materiał badanych populacji wykorzystano także do prognozowania procesu starzenia się nasion, jak również do oceny szybkości kiełkowania, parametru określającego wigor nasion. Niewątpliwie powyższe prace stanowią badania nowatorskie, gdyż są to pierwsze prace związane z mapowaniem QTL w tytoniu dla cech związanych z żywotnością nasion. Analiza tych badań pozwoliła na opisanie regionów chromosomowych związanych z cechami charakteryzującymi żywotność nasion, jako cechę ilościową o charakterze poligenicznym. Badane populacje różniły się pod względem identyfikacji genów QTL związanych z żywotnością nasion tytoniu, nie wykazały jednak wpływu form rodzicielskich na lokalizację QTL na chromosomach. Jak sugeruje Doktorantka nasiona populacji mapujących regenerowano w różnych latach i różnych lokalizacjach, co

mogło mieć wpływ na ich wykrywanie w chromosomach. Stwierdzenie obecności i funkcjonowania genów, jako podstawowych czynników dziedzicznych warunkujących żywotność nasion stanowi zatem dość cenne i interesujące oraz nowatorskie aspekty badawcze.

Z uwagi na to, że stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej są cztery publikacje, które były przedmiotem oceny przez recenzentów i wydawców, mogę potwierdzić, że Doktorantka bardzo dobrze opanowała warsztat badawczy związany z metodami badawczymi dotyczącymi żywotności nasion łącznie z analizą metod stosowanych w badaniach genetycznych. Prowadzone badania wymagały zastosowania odpowiednich testów, zapewnienia określonych warunków temperatury, wilgotności i natężenia światła w trakcie ich prowadzenia, opanowania technik mapowania genów, a przede wszystkim dużego doświadczenia w interpretacji wyników, co należy podkreślić w ocenie Jej badań naukowych.

Bardzo ważnym aspektem w mojej opinii jest również fakt, że Doktorantka zamieszczone w rozprawie doktorskiej badania prezentuje w świetle licznej, trafnie i starannie dobranej pod kątem poruszanej problematyki, najnowszej literatury o zasięgu światowym, zamieszczone w rozdziale „Dyskusja”.

Za najważniejsze osiągnięcia przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej uważam:

- Przeprowadzone badania żywotności nasion na licznej grupie obiektów dwóch gatunków *Nicotiana* wykazały zróżnicowaną żywotność nasion, a istotnym czynnikiem wpływającym na tą cechę była temperatura przechowywania. Obniżenie temperatury przechowywania z 20°C do 0°C wydłużało okres przechowywania nasion średnio od 10 do 30 lat, a obniżenie jej do -18°C o dalsze 20 lat. Zróżnicowana zmienność badanych obiektów pod względem utrzymywania wysokiej żywotności nasion w różnych warunkach przechowywania jest cenną informacją zwłaszcza dla kuratorów kolekcji z uwagi na potrzebę ich regeneracji.
- Interesujące są nowatorskie badania molekularne, dotyczące mapowania QTL dla cech związanych z żywotnością nasion tytoniu. Wykonane analizy wykazały regiony chromosomowe kontrolujące zdolność kiełkowania, tempo starzenia się nasion, oraz szybkość kiełkowania związana z parametrem określającym wigor nasion. Wyniki badań potwierdziły złożoność dziedziczenia w/w cech mających charakter poligeniczny, co pozwala na zrozumienie genetycznych mechanizmów wpływających na żywotność nasion. Ze względu na złożony procesy starzenia się nasion uzyskane

wyniki mogą być powodem do dalszych badań związanych z identyfikacją genów jak i badań metabolomicznych.

- Przedstawione badania stanowią wieloaspektową ocenę żywotności nasion tytoniu o dużym znaczeniu poznawczym, uzupełniają wiedzę dotyczącą reakcji badanych genotypów tytoniu na zróżnicowane warunki przechowywania nasion, a także podłoża genetycznego cech związanych z żywotnością nasion.

5. Wniosek końcowy

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani **mgr Moniki Agackiej-Mołdoch** pt. **”Żywotność nasion tytoniu w zależności od warunków przechowywania i mapowanie QTL kontrolujących tę cechę”** spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w zgodne z Ustawą - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz. U. z 2023r.,poz.742, oraz Regulaminem Rady Naukowej IUNG-PIB (Uchwała nr 13/2018z dnia 27 marca 2018r.oraz Uchwała nr.86/2019 z dnia 18 września 2019 r).z dnia 3 lipca 2018 roku – przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz. U. z 2018 r.,poz.1669, Art. 187, pkt.3. Zakres badań, zastosowane metody badawcze oraz sposób opracowania i przedstawienia wyników w pełni spełniają wymogi stawiane tego typu opracowaniom. Po analizie przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej stwierdzam, że stanowi ona oryginalne opracowanie problemu naukowego oraz mieści się w dziedzinie „nauk rolniczych”, dyscyplinie „rolnictwo i ogrodnictwo”.

W związku z powyższym składam formalny wniosek do Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach o dopuszczenie mgr **Moniki Agackiej-Mołdoch** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Wanda Kociuba

