

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr Moniki Agackiej-Mołdoch

pt. **"Żywotność nasion tytoniu w zależności od warunków przechowywania
i mapowanie QTL kontrolujących tę cechę"**

wykonana na zlecenie Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach.

Ocenie podlegają cztery, tematycznie połączone publikacje, dotyczące badań z zakresu fizjologii i genetyki żywotności nasion z rodzaju *Nicotiana* oraz podsumowujące opracowanie zbiorcze. Publikacje ukazały się w latach 2013-2021 w takich czasopismach, jak *Seed Science and Technology*, *Euphytica* i *Journal of Applied Genetics*, z łącznym IF = 6,12. Wkład Doktorantki w ich opracowanie wynosił 65-70% i we wszystkich publikacjach jest ona pierwszym autorem.

1. OCENA FORMALNA

1.1. OPRACOWANIE ZBIORCZE

Doktorantka przedstawiła na 83 stronach opracowanie zbiorcze w klasycznej strukturze rozprawy doktorskiej oraz kopie czterech publikacji i oświadczenia współautorów oraz promotorów. Opracowanie zbiorcze jest bardzo szczegółowe. W poszczególnych rozdziałach wprowadza czytelnika zarówno do głównego obszaru, to jest ochrony zasobów genowych roślin uprawnych, jak i dwóch głównych problemów zrealizowanych badań, to jest wpływu warunków przechowywania nasion tytoniu na ich żywotność oraz mapowania powiązanych loci cech ilościowych. Warto podkreślić, że są to dwa odrębne kierunki badań dotyczące fizjologii nasion i analiz genetycznych cech ilościowych, jako konsekwencja postawionej **hipotezy, że żywotność nasion w rodzaju *Nicotiana* zależy od warunków przechowywania i czynników genetycznych**. Miało to oczywisty wpływ na dwutorowy przegląd literatury oraz wybór materiału i metod badawczych.

Zwraca uwagę bardzo bogaty przegląd literatury (153 pozycje z obu obszarów), świadczący o przygotowaniu teoretycznym Doktorantki do

podjętych badań. Przegląd został pogrupowany – przez to jest bardziej czytelny – na piśmiennictwo dotyczące znaczenia zasobów genowych, kolekcji rodzaju *Nicotiana*, żywotności, wigoru i długości życia nasion uzależnionych od ich przechowywania oraz identyfikacji loci cech ilościowych warunkujących powyższe cechy. Podobnie szczegółowo i czytelnie przedstawiono pozostałe rozdziały w tym wyniki z wydzieloną dyskusją.

Na podstawie przyjętej hipotezy Doktorantka określiła dwa cele badań własnych, bardzo ważne dla zabezpieczania zasobów genowych:

- ocenę żywotności nasion dwóch gatunków z rodzaju *Nicotiana*, przechowywanych w zróżnicowanych warunkach temperatury i wilgotności, w trzech bankach genów w okresie 2-39 lat,
- identyfikację regionów loci cech ilościowych, warunkujących żywotność nasion w dwóch populacjach mapujących.

Światowe zbiory *Nicotiana* spp. zgromadzone w 70 centrach obejmują 21 715 obiektów, w tym polska kolekcja (908 obiektów) stanowi ponad 4%. Ze względów bezpieczeństwa, zapobiegania erozji genetycznej i kosztów utrzymywania ważne jest, aby zbiory mogły być przechowywane jak najdłużej bez regeneracji. Przykładem jest chociażby światowy bank nasion w bunkrach w Svalbard na Spitsbergenie, korzystający z naturalnie niskiej temperatury. Utrzymanie żywotności nasion jest cechą gatunkową, ale silnie uzależnioną od wilgotności nasion i temperatury przechowywania.

Materiał badawczy Doktorantki pochodził z trzech ośrodków:

- kolekcja aktywna w macierzystym IUNG-PIB w Puławach (18-22°C),
- przechowalnia średnioterminowa (0°C) KCRZG IHAR w Radzikowie,
- kolekcja IPK w Gatersleben/Niemcy (20,3 ± 2,3°C oraz -18°C).

łącznie było to 667 obiektów, spośród których każdego roku losowo wybierano obiekty badawcze.

W badaniach dotyczących QTL wykorzystano dwie populacje mapujące:

- odm. tytoniu cygarowego Florida 301 × odm. tytoniu papierosowego Hicks, 122 RILs uzyskanych techniką pojedynczego nasiona, wykorzystano 339 markerów mikrosatelitarnych,

- tytoń cygarowy Beinhart-1000 × odm. Hicks, 118 osobników DH, wykorzystano 256 markerów mikrosatelitarnych.

W badaniach nad żywotnością nasion stosowano test kiełkowania i test kontrolowanego starzenia. Dla populacji określających QTL oceniano szybkość kiełkowania. W badaniach dotyczących QTL długości życia nasion oceniano cztery cechy kiełkowania.

Reasumując – w ocenie opracowania zbiorczego należy wyróżnić jego szczegółowość. Już jako takie mogłoby zostać uznane za dysertację doktorską, bez załączonych czterech publikacji. W przewodzie doktorskim, uwzględniającym zestaw tematycznie połączonych publikacji, wystarczyłoby 20-30 stron opracowania zbiorczego. Ostatecznie zdecydowała pracowitość Doktorantki i wymagania Promotora.

1.2. PUBLIKACJE

Wyniki badań z zakresu żywotności nasion tytoniu opublikowano w dwóch pracach w czasopiśmie *Seed Science and Technology*. Pierwsza praca dotyczyła żywotności nasion *Nicotiana* spp., przechowywanych w warunkach otoczenia przez 12 lat w dwóch miejscach/magazynach (Puławy i Gatersleben). Zaobserwowano różnice w żywotności nasion między doświadczeniami/magazynami, wynikające z wpływu wilgotności otoczenia, natomiast nie stwierdzono wpływu wielkości nasion. W konkluzji, nasiona tytoniu mogą być bezpiecznie przechowywane (75% regeneracji) w temperaturze 20°C przez okres 10 lat.

W drugiej pracy przedstawiono wyniki dotyczące przechowywania nasion *N. tabacum* i *N. rustica* przez 38 lat w temperaturze -15/-18°C i 33 lat w 0°C. Okazało się, że obniżenie temperatury przechowywania nasion tytoniu znacząco wydłuża długowieczność, czyli możliwość utrzymania zadowalającej zdolności kiełkowania nawet po 50 latach.

Wyniki analiz QTL dla cech związanych z żywotnością nasion ukazały się w *Euphytica* i *JAG*. W każdej z tych prac przedstawiono wyniki dla odrębnych populacji mapujących. W populacji Florida 301 × Hicks (czasopismo *Euphytica*) zidentyfikowano 9 QTL na czterech chromosomach, określając pozycję

względem najbliższego położonego markera chromosomu, %-owy udział w kształtowaniu cechy (współczynnik R^2 : od 7,0 do 18,3) i rodzica-dawcę "korzystnego" allela. Natomiast w drugiej z badanych populacji, Beinhart-1000 × Hicks (czasopismo *JAG*), wykryto 23 QTL o działaniu addytywnym i epistatycznym na 11 chromosomach, uczestniczące w kształtowaniu czterech cech dotyczących żywotności nasion, przy czym QTL o działaniu epistatycznym wykryto tylko dla jednej cechy, tj. liczby skielkowanych nasion.

2. MERYTORYCZNA OCENA PRACY

Na wyróżnienie w opracowaniu zbiorczym zasługuje przeprowadzona dyskusja wyników własnych Doktorantki z wcześniejszym piśmiennictwem. Doktorantka z pełnym profesjonalizmem wykorzystała to opracowanie do zademonstrowania swojej wiedzy i umiejętności dyskusji w szczególnym przypadku badań i publikacji z zakresu dwóch kierunków i specjalności. Dużo uwagi poświęciła wpływowi wilgotności i temperatury na żywotność przechowywanych nasion. Pozwoliły na to badania nad materiałem nasiennym przechowywanym przez wiele lat przy zachowaniu progu dla zdolności kiełkowania wynoszącym 75%. Porównanie warunków przechowywania (temperatura i wilgotność) w różnych magazynach nasion wskazało na nie zawsze doceniane znaczenie niskiej wilgotności powietrza. Doktorantka zacytowała tu regułę Harringtona z 1963 roku, wg której zmniejszenie wilgotności nasion o 1% i temperatury przechowywania o 5°C dwukrotnie wydłuża czas życia nasion, a wg Roberta i Ellisa (1981), długość życia nasion podwaja się na każde 10% obniżenia wilgotności względnej powietrza. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę pokazały, że głównym czynnikiem decydującym o żywotności nasion *Nicotiana* jest temperatura przechowywania. I tak, przy obniżeniu temperatury z 20°C do 0°C okres zachowania wysokiej zdolności kiełkowania wydłużył się z 10 do 30 lat, a przy obniżeniu z 0°C do -18°C z 30 do ponad 50 lat.

Podobnie interesująco poprowadzono dyskusję wyników badań nad mapowaniem QTL związanych z żywotnością nasion tytoniu. Ponieważ badania Doktorantki u *Nicotiana* miały charakter pionierski (!), wyniki konfrontowano z uzyskanymi u innych gatunków, ale przede wszystkim dyskutowano rezultaty z dwóch odrębnych populacji z jedną wspólną formą rodzicielską. Wobec

niewykrycia wspólnych dla obu populacji QTL słusznie stwierdzono, że wpływ miały odmienne warunki uprawy (różne lata i miejscowości). Zatem dalsze badania w różnych warunkach są konieczne dla pełnego poznania i praktycznego wykorzystania wielogenowego charakteru dziedziczenia cech związanych z żywotnością nasion tytoniu.

3. PODSUMOWANIE

Doktorantka zrealizowała badania z zakresu fizjologii i genetyki cech związanych z żywotnością nasion dwóch gatunków tytoniu. Dla postawionej hipotezy i celu badań dobrała właściwy materiał i metody badawcze. Wyróżnić tu należy różnorodność materiału i jego pochodzenie – centra kolekcyjne i panujące w nich warunki przy bardzo długim czasie przechowywania. Takie podejście może mieć jedynie doświadczony kurator zasobów genowych. Natomiast podjęcie badań w dwóch kierunkach, fizjologicznym i genetycznym (szczególnie z zakresu genetyki ilościowej), świadczy o szerokim spojrzeniu na interesującą i ważną problematykę w połączeniu z bardzo dobrym, wcześniejszym przygotowaniem, dotyczącym znajomości piśmiennictwa i metod badawczych. W efekcie Doktorantka prowadziła badania istotne z punktu widzenia przechowywania materiałów kolekcyjnych, jak i przemysłu nasiennego. Wartość badań podkreśla jednocześnie zainteresowanie podłożem genetycznym cech przy słusznym założeniu ich ilościowego charakteru. **W konsekwencji, co najważniejsze, Doktorantka uzyskała wartościowe wyniki z obu kierunków badań.** Między innymi wykazała brak różnic między dwoma odrębnymi gatunkami *Nicotiana* pod względem zachowania zdolności kiełkowania nasion oraz możliwość znaczącego, sięgającego kilkudziesięciu lat, przedłużenia okresu przechowywania nasion przy zachowaniu wysokiej, progowej zdolności kiełkowania.

Znaczące są także osiągnięcia dotyczące podłoża genetycznego cech związanych z żywotnością nasion. Zidentyfikowanie QTL dla tych cech, łącznie z określeniem ich %-ego udziału w kształtowaniu cechy, to pierwsze takie osiągnięcie u *N. tabacum* (!). W populacji Florida 301 × Hicks wykryto 4 regiony na 4 chromosomach, a w populacji Beinhart-1000 × Hicks zidentyfikowano 23 regiony QTL o działaniu addytywnym na 11 chromosomach, odpowiedzialne

za zmienność 4 cech, a dla liczby skielkowanych nasion wykryto QTL o działaniu epistatycznym.

Wartościowe wyniki zapewniły ich opublikowanie w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, co z kolei powinno dać Doktorantce rozpoznawalność wśród naukowej społeczności odpowiednich specjalności. Nie bez znaczenia dla ostatecznej, wysokiej oceny pracy doktorskiej jest wcześniej wspomniana, wyróżniająca jakość opracowania zbiorczego. Doktorantka wykazała się zarówno wysokim poziomem umiejętności związanych z opracowaniem dysertacji doktorskiej, jak i publikacji w naukowych czasopismach.

WNIOSEK KOŃCOWY

Oceniana rozprawa doktorska (cztery powiązane tematycznie publikacje i opracowanie zbiorcze) spełnia wymogi zdefiniowane w art. 187 Ustawy z 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dz. U. z 2021 r. poz. 478. Zawiera ona wyjaśnienie oryginalnej hipotezy badawczej i realizację postawionych celów naukowych. Kandydatka do stopnia naukowego w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo posiada szeroką wiedzę teoretyczną i umiejętność prowadzenia badań, opracowywania wyników i ich publikacji. W konsekwencji wnioskuję do Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach o dopuszczenie Pani mgr Moniki Agackiej-Mołdoch do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Poznań, dnia 7.04.2025

prof. dr hab. Wojciech Święcicki