

Prof. dr hab. Piotr Sobiczewski
Zakład Fitopatologii IO
96-100 Skierniewice, Pomologiczna 18
Tel.:46 834 53 67, fax: 46 834 53 75,
e-mail: Piotr.Sobiczewski@inhort.pl

Ocena osiągnięć naukowo-badawczych, dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej dr Zhimin Yin ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie agronomia

Pani dr Zhimin Yin rozpoczęła pracę naukową po ukończeniu studiów inżynierskich na Wydziale Agronomii Uniwersytetu w Hebei, Baoding (Chińska Republika Ludowa). W latach 1987-1998 pracowała w Instytucie Bawełny Akademii Rolniczej i Leśnej w Hebei, Shijiazhuang (ChRL) jako asystent.

Po uzyskaniu stypendium Ministerstwa Edukacji ChRL odbyła w latach 1997-1998 studia magisterskie na Wydziale Ogrodniczym Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie ukończone obroną pracy magisterskiej pt. „Transformation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) with PR-2d/uidA reporter gene construct”. W latach 1998-2002 uczestniczyła w studiach doktoranckich zakończonych obroną rozprawy doktorskiej pt. Analysis of transgenic cucumber plants containing PR-2d uidA and p35S CaMV thaumatin constructs” wykonanej pod kierunkiem prof. dr. hab. Stefana Malepszego.

Po doktoracie dr Zhimin YIN pracowała, w latach 2003-2008, w Instytucie Genetyki Roślin PAN w Poznaniu prowadząc badania nad rolą dehydryn w odporności na stres chłodu dwóch gatunków roślin z rodzaju *Solanum*: *S. soganandinum* i *S. tuberosum*. Uczestniczyła także w realizacji 2 projektów finansowanych przez KBN, które zaowocowały uzyskaniem transgenicznych linii ogórka i ziemniaka z konstrukcjami *S. soganandinum* pGT::Dhn10 i pGT::Dhn24.

Od 2008 roku dr Zhimin YIN pracuje w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Oddział w Młochowie, prowadząc głównie badania nad wirusowymi patogenami ziemniaka i ich interakcją z roślinami-gospodarzami.

Recenzję osiągnięć naukowych Pani doktor Zhimin Yin opracowałem w oparciu o przesłane mi materiały:

- autoreferat, w którym Habilitantka przedstawiła syntetyczny opis osiągnięcia naukowego oraz kopie publikacji stanowiących to osiągnięcie wraz z oświadczeniami współautorów,
- krótki opis pozostałych osiągnięć badawczo-rozwojowych, zestawienie dorobku

- publikacyjnego i kopie 10 publikacji,
- syntetyczny opis dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego,
- informacja o współpracy międzynarodowej,
- aktywność w zakresie pozyskiwania i kierowania grantami,
- informacja o udziale w międzynarodowych i krajowych projektach badawczych
- wykaz nagród za działalność naukową
- wykaz wygłoszonych referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach,
- uczestnictwo w stażach, seminariach i szkoleniach,
- członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych,
- wykaz osiągnięć dydaktycznych i w zakresie upowszechniania nauki,
- wykaz prac popularno-naukowych,
- wykaz wykonanych ekspertyz lub inne opracowania na zamówienie
- pełnienie funkcji recenzenta w czasopismach krajowych i zagranicznych,
- wykaz wykładów zapraszanych, wygłaszanych w Polsce i za granicą,
- wykaz opublikowanych prac naukowych i popularno-naukowych,

1. Ocena osiągnięcia naukowego

Przedstawione osiągnięcie zatytułowane „Studium interakcji wirusa Y z ziemniakiem i tytoniem” obejmuje 5 zbliżonych tematycznie publikacji:

H1. Yin Z, Chrzanowska M, Michalak K, Zagórska H, Zimnoch-Guzowska E (2012) Recombinants of PVY strains predominate among isolates from potato crop in Poland. *J. Plant Prot. Res.* 52: 214-219.

H2. Zimnoch-Guzowska E, Yin Z, Chrzanowska M, Flis B (2013) Sources and effectiveness of potato PVY resistance in IHAR's breeding research. *Am. J. Potato Res.* 90: 21-27.

H3. Yin Z, Xie F, Michalak K, Pawełkiewicz M, Zhang B, Murawska Z, Lebecka R, Zimnoch-Guzowska E (2017) Potato cultivar Etola exhibits hypersensitive resistance to PVY_{NTN} and partial resistance to PVY_{Z-NTN} and PVY_{N-wi} strains and strain-specific alterations of certain host miRNAs might correlate with symptom severity. *Plant Pathol.* 66: 539-550.

H4. Yin Z, Murawska Z, Xie F, Pawełkiewicz M, Michalak K, Zhang B, Lebecka R (2018) microRNA response in potato virus Y infected tobacco shows strain-specificity depending on host and symptom severity. *Virus Res.* <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2018.11.002>. (*Virus Res.* 2019. 260: 20-32)

H5. Yin Z (2018) Host miRNAs and virus-derived small RNAs in plants infected with certain potyviruses. In *Plant Viruses: Diversity, Interaction and Management*, eds. RK Gaur, SMP Khurana, and Y Dorokhov. Boca Raton, FL: CRC Press. Chapter 17, pp 279-299.

Publikacje od H1 do H4 zawierają wyniki badań eksperymentalnych, a H5 jest pracą przeglądową. Sumaryczny IF tych prac wynosi 5,738, a suma punktów wg listy czasopism MNiSW – 104. W czterech pracach dr Yin jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Analiza oświadczeń współautorów wskazuje, że Habilitantka była kierownikiem, głównym wykonawcą i twórcą koncepcji badań, a także głównym autorem manuskryptów. Przedstawione prace obejmowały trzy grupy zagadnień: badania nad występowaniem i różnorodnością wirusa PVY, podatność odmian ziemniaka na PVY, interakcje między PVY a ziemniakiem i tytoniem. Udział dr Yin w ich powstaniu określono na 40-60%,.

Problematyka obejmująca szeroko zakrojone badania nad patogenem została przedstawiona w pracach H1-H4. Wieloletni monitoring populacji wirusa PVY prowadzony w uprawach ziemniaka w Młochowie pozwolił na utworzenie kolekcji izolatów, w skład której weszły również izolaty zebrane z pól ziemniaków rosnących w Polsce Północnej i Centralnej. Izolaty te zostały scharakteryzowane z zastosowaniem testów biologicznych i serologicznych, a wybrane analizowano metodą tripleksowej, jednoetapowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR). Stwierdzono, że we wczesnych latach 80-tych XX wieku szczep PVY⁰ stanowił nawet około 90% populacji PVY występującej w Polsce, ale od 1986 roku jego udział zmniejszył się do poniżej 10% tej populacji. W latach 1984-2004 wykrywano jako dominujący szczep PVY^{N-Wi}, którego udział w następnych kilku latach zmniejszył się do niewiele ponad 30%, po czym ponownie był on formą dominującą. Wykryto także szczep PVY^{NTN}, którego udział w populacji PVY podlegał ilościowym wahaniom w różnych latach. Wykazano ponadto, że wszystkie izolaty szczepu PVY^{N-Wi} indukowały powstawanie silnych lokalnych plam na *Chenopodium amaranticolor*, a większość izolatów szczepu PVY^{NTN} było typowym serotypem PVY^N powodującym różne reakcje na tej roślinie – od braku symptomów do ich nasilenia w różnym stopniu. Spośród ponad 100 izolatów badanych metodą RT-PCR większość zostało zidentyfikowanych jako szczep PVY^{N-Wi}, około 25% jako szczep PVY^{NTN} a tylko niektóre jako PVY⁰.

Klasyfikacja szczepów trzech izolatów PVY na podstawie cech biologicznych i sekwencji genomu wykazała, że dwa z nich, przełamujące odporność typu HR warunkowaną genami występującymi w odmianach indykatorowych ziemniaka oraz wywołujące silne nekrozy nerwów liści tytoniu (VN), zaliczono do szczepu PVY^N. Ponadto wynik reakcji RT-PCR i sekwencjonowania całego genomu pozwolił na sklasyfikowanie tych izolatów jako szczepów

zrekombinowanych PVY^{NTN} oraz PVY^{N-Wi}. Trzeci z badanych izolatów, posiadający odmienne zdolności chorobotwórcze, został sklasyfikowany jako PVY^{Z-NTN} typ A.

Porównanie sekwencji aminokwasów tzw. pomocniczego komponenta proteiny (HC-Pro), będącego wielofunkcyjnym białkiem zaangażowanym w infekcje wirusowe wykazało występowanie po raz pierwszy w Europie szczepu PVY^{Z-NTN} typ A. Analiza genetycznego podłoża zdolności tego szczepu do wywołania reakcji VN na tytoniu wskazuje, że jest ono złożone i może obejmować jeszcze inne elementy HC-Pro. W podsumowaniu Habilitantka stwierdziła, że głównymi szczepami zakażającymi ziemniaki uprawiane w Polsce są PVY^{N-Wi} i PVY^{NTN}.

Badania nad podatnością 113 odmian ziemniaka na porażenie przez PVY przedstawiono w publikacjach H2, H3 i H4. Wykazano, że 45 spośród tych odmian było odpornych na wszystkie cztery użyte w badaniach izolaty PVY, a 24 odmiany okazały się podatne. Wyniki szczegółowych badań polskiej odmiany Etola wskazały na występowanie źródła odporności na tego wirusa. Odmiana ta posiada m.in. gen *Nz* warunkujący wywołanie reakcji HR skutkującej odpornością ziemniaka na zakażenie przez różne szczepy wirusa PVY.

Zagadnienia dotyczące interakcji między wirusem PVY a ziemniakiem i tytoniem przedstawiono w publikacjach H3 i H4. Obiektami badań była odmiana Etola oraz trzy szczepy PVY: PVY^{NTN}, PVY^{N-Wi} i PVY^{NTN}. Przeanalizowano grupę cząsteczek miRNA, powiązanych z reakcją na stres biotyczny: 10miRNA i 14miRNA w interakcjach PVY-ziemniak oraz 26 miRNA i 23 miRNA w interakcji PVY-tytoń. Uzyskane wyniki stanowią pierwszą informację dotyczącą specyficznych dla szczepu wirusa zmienności w zestawie cząsteczek miRNA wykazujących ekspresję w roślinie-gospodarzu oraz ich cząsteczek docelowych w interakcji PVY-ziemniak i PVY-tytoń. Większość tych cząsteczek wykazała ekspresję tylko u roślin zakażonych szczepami powodującymi objawy w dużym nasileniu, a mianowicie w ziemniaku zakażonym PVY^{N-Wi} oraz tytoniu zakażonym PVY^N i PVY^{N-Wi}. Wykazano także, że dwie cząsteczki miRNA regulujące geny biorące udział w transdukcji sygnału mogą korelować z indukowaną nekrozą nerwów VN u tytoniu powodowaną przez szczepy PVY^{NTN} i PVY^{N-Wi}.

Ważnym osiągnięciem tej części badań było stwierdzenie, że poziom ekspresji miRNA kodującego białko HC-Pro u wysoce wirulentnego izolatu PVY-3411 (PVY^{N-Wi}) zakażającego ziemniaka odm. Etola był znacznie wyższy niż u szczepu o niższej wirulencji PVY-3303 (PVY^{Z-NTN}). Natomiast nie wykryto tego białka u izolatu PVY-3202, na który rośliny odm. Etola były odporne. W interakcji PVY-tytoń wykazano wysoki poziom ekspresji u izolatów PVY-3411 i PVY-3202, a niższy poziom u izolatu PVY-3303. Istnieje przypuszczenie, że wybrane cząsteczki miRNA o zmienionych poziomach ekspresji miRNA kodującego białko HC-Pro w ziemniaku zakażonym PVY^{N-Wi} odm. Etola mogą odpowiadać za zwiększone nasilenie objawów chorobowych na liściach ziemniaka.

Interesujące i ważne w znaczeniu epidemiologicznym było wykazanie, że dodatkowe elementy w białku HC-Pro mogą odpowiadać za utratę zdolności izolatu PVY-3303 do wywołania objawów VN na tytoniu. Ponadto aminokwas V₂₅₂ specyficzny dla PVY⁰ indukujący gen *Ny*, kodujący odporność typu HR na ziemniaku, może być powiązany z odpornością lub zmniejszoną podatnością odm. Etola na porażenie przez izolat PVY-3303.

Do najważniejszych elementów osiągnięcia naukowego zaliczam:

- zidentyfikowanie genu *Nz* jako nowego źródła odporności ziemniaka odm. Etola na PVY,
- wykazanie po raz pierwszy specyficznych dla szczepu wirusa zmienności w zestawie cząsteczek miRNA,
- wykazanie, że ziemniaki uprawiane w Polsce są głównie porażane przez szczepy PVY^{N-WI} i PVY^{NTN},
- wykazanie po raz pierwszy, że w Europie występuje szczep PVY^{Z-NTN} typ A,
- wykazanie, że dodatkowe elementy w białku HC-Pro mogą odpowiadać za zdolności chorobotwórcze PVY.

Przedstawiona syntetyczna analiza osiągnięcia pozwala na stwierdzenie, że każda z publikacji wnosi nowe elementy naukowe do pełniejszego poznania wirusa PVY oraz patogenezę choroby powodowanej przez tego wirusa. Całe osiągnięcie stanowi również ważny element epidemiologii wirozy, co w dalszej perspektywie może stanowić podstawę do prowadzenia badań nad opracowaniem integrowanej strategii ochrony ziemniaka przed chorobą.

2. Ocena pozostałej aktywności naukowej

Poza publikacjami stanowiącymi osiągnięcie naukowe, dr Zhimin Yin prowadziła badania, których tematyka po doktoracie obejmowała głównie następujące zagadnienia:

- analiza roli dehydryn w odporności *Solanum sogarandinum* i *S. tuberosum* oraz ogórka na stres chłodu,
- ekspresja genów związanych z tolerancją na stresy wywołane chłodem, suszą i zasoleniem,
- wirusy i wirozy ziemniaka oraz ich zwalczanie,
- odporność ziemniaka na choroby wirusowe,
- diagnostyka chorób wirusowych ziemniaka.

Do szczególnie interesujących i ważnych zaliczam badania nad zwiększaniem odporności ogórka i pomidora na stresy pochodzenia abiotycznego. W badaniach nad transkrypcyjną ekspresją fuzji genu pGT::*Dhn10* *Solanum sogarandinum* w ogórku i jej korelacją z tolerancją na przechłodzenie u transgenicznych siewek stwierdzono, że niektóre linie transgeniczne

wykazały istotny wzrost tolerancji po wstępnym przechłodzeniu w temperaturze 6°C, a następnie utrzymaniu w temperaturze 2°C. Natomiast istotny spadek tolerancji tych linii wystąpił po traktowaniu temperaturami poniżej 0°C. Wykazano także, że poziom ekspresji białka DHN24 u transgeniczných siewek ogórka nie był skorelowany ze stopniem tolerancji na chłód, chociaż jedna z tych linii wykazała podwyższoną tolerancję i jednocześnie posiadała najwyższą zawartość tego białka w korzeniach w porównaniu do innych linii. Uważam, że wyniki przedstawionych badań mają znaczenie dla praktyki rolniczej i wskazują na możliwości uzyskania roślin o podwyższonej tolerancji na chłód. Uzyskano także transgeniczne rośliny pomidora z ekspresją genu 24 kDa dehydryny – białka, wytwarzanego w tkankach roślin poddanych odwodnieniu (w wyniku działania suszy, stresu osmotycznego, niskiej temperatury).

Do badań o istotnym znaczeniu metodycznym zaliczam opracowanie nowych metod transformacji roślin ogórka z wykorzystaniem *Agrobacterium tumefaciens*. Pierwsza z nich dotyczy bezpośredniej regeneracji mikroeksplantatów na pożywce zawierającej kanamycynę, druga zaś regenerację z długotrwałej ustalonej embriogenicznej hodowli zawieszinowej emitującej zieloną autofluorescencję, a następnie selekcję na pożywce z hygromycyną. W przypadku pierwszej metody efektywność wynosiła do 6,5% a drugiej nawet do 17,9%. Przy uzyskaniu stabilności dziedziczenia wynik ten jest bardzo zadowalający.

Na uwagę zasługują również badania nad wirusem czopowatości bulw ziemniaka i pstrej plamistości pędów ziemniaka (TRV) wykrytym w uprawach ziemniaka w Polsce. Analiza sekwencji genomowego RNA1 izolatów tego wirusa pozyskanych za pomocą roślin chwytниковych tytoniu wykazała istotne podobieństwo do izolatów Ho i Al wykrytych ostatnio w Niemczech, a analiza genomowego RNA2 metodą porównania sekwencji wykazała, że dwa z tych izolatów są podobne do izolatów PSG i PLB znalezionych w Holandii, dwa zaś pozostałe znalazły się w odrębnej grupie z unikatowym izolatem SYM wykrytym w Anglii. Stwierdzono, że RNA2 istotnie różni się między izolatami wirusa, chociaż nie wiadomo czy pochodzące z upraw ziemniaka izolaty rzeczywiście wykazywały różnorodność czy też pojawiła się ona wskutek pasażowania na alternatywnych roślinach-gospodarzach. Badania nad polimorfizmem pojedynczych nukleotydów i przesunięcia ramki odczytu w rekombinowanych regionach RNA2 izolatów Slu24 i Deb57 wirusa wskazują na zmiany w translacji aminokwasów, co w konsekwencji prowadzi do syntezy różnych polipeptydów. To zróżnicowanie obejmuje substytucje i delecje nukleotydów, jak również przewidywane przesunięcia ramek odczytu skutkujące zmienionymi kodowanymi białkami, oprócz dowodów rekombinacji. Aplikacyjnym aspektem tych badań jest wskazanie

możliwości pojawiania się zmian w patogeniczności wirusa, w tym w zakresie potencjalnych roślin-gospodarzy.

Analiza dorobku naukowego dr Zhimin Yin wskazuje na Jej wielokierunkowe zainteresowania, konsekwencję w dążeniu do wytyczonych celów, rozwiązywania i wyjaśniania aktualnych dla praktyki i nauki problemów.

Sumaryczny IF publikacji naukowych dr Zhimin Yin (oprócz osiągnięcia naukowego) wg listy Journal Citation Reports wynosi 15,736, a suma punktów wg MNIŚW 255. Liczba cytowań (bez autocytowań) wszystkich publikacji wg bazy 'WoS core collection' wynosi 203, a indeks Hirscha 7. Habilitantka opublikowała łącznie 37 prac. Suma ta obejmuje 23 prace oryginalne (4 z nich wchodzi w skład osiągnięcia naukowego), 5 monografii (w tym 3 w jęz. angielskim, z czego jedna wchodzi w skład osiągnięcia naukowego) oraz 9 prac przeglądowych i popularno-naukowych. Na podkreślenie zasługuje opublikowanie 15 prac ze współczynnikiem wpływu IF (wszystkie po uzyskaniu stopnia doktora). W większości prac Kandydatka jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Ponadto dr Z. Yin jest autorem 20 artykułów naukowych i doniesień opublikowanych w wydawnictwach kongresowych i konferencyjnych. Udział Kandydatki w przeprowadzeniu badań i opracowaniu tych prac został oceniony na od 15% do 100%.

Podsumowując należy stwierdzić, że przedstawiony dorobek jest na dobrym poziomie, a na podkreślenie zasługuje duża liczba cytowań prac Habilitantki oraz pozycja pierwszego autora i autora korespondencyjnego w opublikowanych pracach. Godnym wyróżnienia jest także fakt, że dr Z. Yin jest pierwszym w Polsce badaczem cząsteczek miRNA wirusa PVY.

3. Ocena dorobku dydaktyczno-organizacyjnego i popularyzatorskiego

Dr. Zhimin Yin legitymuje się niezbyt bogatym dorobkiem w zakresie działalności dydaktycznej. W trakcie swojej pracy przestawiła 9 prezentacji ustnych w języku angielskim, w tym 7 na konferencjach międzynarodowych. Wyniki swoich badań zaprezentowała także na 8 posterach. Ponadto wygłosiła 42 wykłady i referaty na seminariach i konferencjach (wszystkie po doktoracie), w tym jako prelegent zapraszany siedmiokrotnie w kraju oraz trzy razy za granicą.

Habilitantka była głównym wykonawcą dwóch projektów międzynarodowych, w tym jednego w ramach 6. Programu Ramowego Unii Europejskiej, a drugiego w ramach funduszu Regionu Północnego i Bałtyckiego. Była także kierownikiem trzech projektów krajowych finansowanych przez KBN, NCN i MRiRW. Na wyróżnienie zasługuje także funkcja głównego wykonawcy dr Z. Yin w czterech innych projektach, z których jeden był

finansowany przez KBN, a pozostałe przez MRiRW. Wskazuje to także na umiejętność Kandydatki w organizacji pracy zespołowej i kierowania zespołami badawczymi.

Jako autorytet w swojej dziedzinie Habilitantka zrecenzowała 9 publikacji złożonych do czasopism zagranicznych z IF.

Na podkreślenie zasługuje również członkostwo dr Z. Yin w sieci badawczej PVYwide skupiającej ekspertów z ponad 20 krajów. Celem sieci jest współpraca w zakresie poznania różnorodności wirusa PVY, w tym zdolności chorobotwórczych oraz epidemiologii choroby powodowanej przez tego wirusa w uprawach ziemniaka.

Za osiągnięcia i aktywność na polu nauki dr Z. Yin była dwukrotnie wyróżniona przez Rektora SGGW oraz otrzymała nagrody Rady Wydziału Ogrodniczego SGGW i Ministra Edukacji Chińskiej Republiki Ludowej za pracę doktorską. Ponadto była laureatem nagrody Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN za cykl publikacji z badań nad tolerancją odmian uprawnych ziemniaka oraz dzikiego gatunku *Solanum soganandinum* na stresy wywołane chłodem, suszą i zasoleniem, a Dyrektor macierzystego Instytutu wyróżnił Ją dwukrotnie za opublikowanie wyników badań w międzynarodowych czasopismach naukowych.

4. Wniosek końcowy

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiony do oceny w ramach postępowania habilitacyjnego dr Zhimin Yin materiał jest merytorycznie dobry. Uzyskane wyniki mają duże znaczenie poznawcze nie tylko o charakterze podstawowym, ale i aplikacyjnym. Kandydatka jest dobrze przygotowana do samodzielnej pracy naukowej, a także kierowania zespołem badawczym.

Uważam, że dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny Pani dr Zhimin Yin oraz Jej osiągnięcia naukowe spełniają kryteria określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) oraz w Rozporządzeniu MNiSW w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego z dnia 1 września 2011 roku. W związku z powyższym, popieram wniosek o nadanie Pani dr Zhimin YIN, adiunktowi w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie agronomia.

Skierniewice, 1 lipca 2019 r.

P. Sobierewski