

Prof. dr hab. Danuta Kozak
Katedra Roślin Ozdobnych
i Architektury Krajobrazu
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Marty Urbaniec-Kiepura
pt.: "Krioprezerwacja nasion i wierzchołków wzrostu lili złotogłów
(*Lilium martagon* L.) jako metoda ochrony *ex situ*"

wykonanej w Katedrze Roślin Ozdobnych na Wydziale Biotechnologii i Ogrodnictwa
Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie,
pod kierunkiem prof. dr hab. Anny Bach

Bioróżnorodność jest bardzo ważnym zagadnieniem naukowym i jednym z istotnych aspektów ochrony przyrody. Różnorodność gatunkowa powoduje, że otaczający nas ekosystem działa prawidłowo. Dlatego tak ważna jest ochrona ginących gatunków. Praca doktorska mgr Marty Urbaniec – Kiepura dotyczy niezwykle interesującego i aktualnego zagadnienia, jakim jest opracowanie metody krioprezerwacji lili złotogłów (*Lilium martagon* L.), jako ochrony tego gatunku w warunkach *ex situ*. Lilia złotogłów to najbardziej okazała bylina, osiągająca od 40 do 150 cm wysokości, rosnąca na przeważającej części Europy w stanie dzikim. Obok lili bulwkowatej (*Lilium bulbiferum* L.) ma jedne z największych kwiatów wśród krajowej flory. Dawniej bardzo pospolita, jest jednak coraz rzadsza. Głównym zagrożeniem jest niszczenie okazów kwitnących i zrywanie pięknych kwiatów zarówno przez turystów jak i miejscową ludność. Rośnie na zrębach, w zaroślach i lasach. Spotkać ją można w Karpatach i Sudetach. Na nizinach występuje bardzo rzadko. W Polsce jest pod ścisłą ochroną gatunkową. Wyginięcie tego gatunku byłoby nieodwracalną stratą. Program ochrony gatunku obejmuje dwa podstawowe działania - ochronę *in situ* (w naturalnym środowisku życia) i *ex situ* (poza tym środowiskiem). Właściwie wybrany temat pracy, dotyczy krioprezerwacji nasion i wierzchołków wzrostu lili złotogłów, a więc zagadnienia mieszczącego się w głównym nurcie badań nad zabezpieczeniem roślinnych zasobów genowych. Krioprezerwacja jest nowoczesną, bezpieczną metodą długoterminowego przechowywania materiału biologicznego w bardzo niskich temperaturach, najczęściej w ciekłym azocie (-196 °). Zamrożony materiał nie podlega

zadnym zmianom, może więc być przechowywany przez czas nieograniczony. Ponadto możliwe jest przechowywanie bardzo dużej ilości genotypów na niewielkiej przestrzeni, przy stosunkowo niewysokich kosztach utrzymywania próbek. Stąd wzrasta rola banków genów i badania w tym zakresie są wysoce uzasadnione.

Przedstawiona do recenzji praca ma formę zbioru 3. spójnych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach ujętych w wykazie czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz komunikatu naukowego z lat 2010 - 2017. Jest to zgodne z nowelizacją ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki” z dnia 18 marca 2011 roku (art.13, ust. 2). Dwie prace zostały opublikowane w międzynarodowym czasopiśmie anglojęzycznym *CryoLetters*, posiadającym współczynnik wpływu Impact Factor (IF 2014 - 1,14; IF 2016 - 0,748), o łącznej wartości 1,888. Trzecia pozycja jest pracą polskojęzyczną opublikowaną w czasopiśmie „Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych” (6 punktów MNiSW). Komunikat naukowy uwzględniony w rozprawie został umieszczony w Materiałach konferencyjnych „2nd International Symposium on Plant Cryopreservation”, Fort Collins Colorado, 2013. We wszystkich artykułach i komunikacie Doktorantka jest pierwszą autorką a Jej wiodący udział jest potwierdzony załączonymi oświadczeniami współautora.

Pierwsza praca z cyklu pt. „Charakterystyka ekologiczna populacji lili żłotogłów (*Lilium martagon* L.) na północnym stoku Babiej Góry” przedstawia wyniki badań, których przedmiotem była populacja lili żłotogłów w Babiogórskim Parku Narodowym. Badaniami objęto pięć stanowisk lili żłotogłów. Przeanalizowano cechy osobnicze gatunku, warunki glebowe, świetlne, wzniesienie n.p.m. oraz określono typ zbiorowiska roślinnego w miejscu występowania tych roślin.

Druga praca z cyklu, zatytułowana: „Effect of pre-storage on *Lilium martagon* L. seed longevity following cryopreservation” dotyczy oceny wpływu przechowywania i przedtraktowania nasion na ich wilgotność. Zbadano również wpływ tych czynników i krioprezerwacji na zdolność kiełkowania nasion i średni czas ich kiełkowania. Oceniono siewki uzyskane z nasion poddanych krioprezerwacji.

Trzecia praca składająca się na rozprawę pt. „Cryopreservation of *Lilium martagon* L. meristems by droplet - vitrification and evaluation of their physiological stability” zawiera wyniki badań nad wpływem przedtraktowania na stopień przeżycia i regeneracji merystemów poddanych krioprezerwacji. Ponadto oznaczono fluorescencję chlorofilu, wydajność tlenową w procesie fotosyntezy oraz określono ploidalność roślin, które wyrosły z merystemów.

Komunikat naukowy uwzględniony w rozprawie doktorskiej pt. „Effect of cryopreservation of seeds of martagon lily (*Lilium martagon* L.) on the quality of seedlings” zawiera skondensowane informacje na temat oceny jakości regenerantów na podstawie przebiegu fotosyntezy, wydajności tlenowej i wskaźnika fluorescencji

Praca doktorska mgr Marty Urbaniec – Kiepusza, zawierająca w/w cykl publikacji, ma formę syntetycznego opracowania, w którym na 42 stronach, w 11 rozdziałach, przedstawiono: 1. Wykaz opublikowanych prac stanowiących rozprawę doktorską, 2. Streszczenie w języku polskim, 3. Wstęp, 4. Hipotezę badawczą i cel badań, 5. Miejsce, materiał, metody wykonywanej pracy, 6. Wyniki i dyskusję, 7. Podsumowanie, 8. Źródło finansowania, 9. Cytowaną literaturę, 10. Dorobek naukowy, 11. Streszczenie w języku angielskim. Na zakończenie przedstawiono oświadczenia współautorów określające wkład Doktorantki w powstanie publikacji. Do rozprawy dołączono kopie artykułów Doktorantki.

„Wstęp” liczący 5 stron zawiera opis Babiogórskiego Parku Narodowego, charakterystykę lilii złotogłów a także wprowadza w sposób szczegółowy w tematykę krioprezerwacji jako metody ochrony ozdobnych geofitów *ex situ*. Ta część pracy wskazuje, że Doktorantkę cechuje rzeczowe podejście do podjętej tematyki badawczej i dobre przygotowanie teoretyczne do badanych zagadnień.

W rozdziale „Hipoteza badawcza i cel badań” Autorka zakłada, że lilia złotogłów może być poddana krioprezerwacji bez negatywnego jej wpływu na badaną roślinę i jasno opisuje cel badań.

W „Metodyce badań” przedstawiono miejsce prowadzonych badań, scharakteryzowano materiał badawczy i w syntetycznej formie zaprezentowano metody badań. Szczegółowe opisy metodyczne przedstawiono w publikacjach stanowiących rozprawę doktorską. Na podkreślenie zasługuje fakt, że badania były przeprowadzone we współpracy z Zakładem Biologii Molekularnej i Cytologii Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy.

Rozdział „Wyniki i Dyskusja” liczy 15 stron i zawiera omówienie głównych wyników prac doświadczalnych. Szczegółowy opis wyników przedstawiono w 3 publikacjach stanowiących rozprawę doktorską. Autorka porównuje uzyskane wyniki z danymi piśmiennictwa.

W „Podsumowaniu” Autorka zawarła wnioski wynikające z przeprowadzonych badań. Są one poprawnie sformułowane i w pełni uzasadnione.

„Cytowana literatura” zawiera 156 pozycji dobrze dobranego piśmiennictwa zagranicznego (110) i krajowego (46).

Cały dorobek naukowy Pani mgr Marty Urbaniec – Kiepura obejmuje 3 oryginalne prace badawcze wchodzące w zakres rozprawy i 7 doniesień z konferencji, w tym 5 krajowych (Lublin, Warszawa, Kraków - 2x, Poznań) i 2 – z konferencji zagranicznych (Colorado, USA- włączone do rozprawy i Londyn, Wielka Brytania).

Opracowanie kończy streszczenie w j. angielskim. W streszczeniu (w języku polskim – rozdział 2 i języku angielskim - rozdział 11) Doktorantka zawarła syntetyczne podsumowanie zagadnień omawianych w rozprawie oraz wnioski z przeprowadzonych badań.

Podsumowując część opisową pracy stwierdzam, że jest to opracowanie przygotowane starannie i w sposób przejrzysty przedstawia tematykę badawczą. Świadczy to o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki oraz znajomości piśmiennictwa z tego zakresu.

Szczegółowa lektura pracy pozwoliła wykryć drobne, pojedyncze niedociągnięcia.

- literatura powinna być cytowana w kolejności roku wydania
- brak jednolitego cytowania 2 autorów pracy, pojawia się łączenie nazwisk przez „i” lub „and”
- str. 13, Mapa 1 – dwukrotnie zaznaczono stanowisko 4 i 5, brak oznaczenia dla stanowiska 2 i 3
- na Ryc. 2, str. 18, brak oznaczenia % na osi pionowej
- str. 22, powinno być „3 taksonów lili” a nie „3 odmian”, gdyż podano 2 odmiany i 1 gatunek
- str. 23 – podano „przechowywanie cebul przybyszowych przez 4 tyg.na pożywce zawierającej 3% sacharozy”, należało podać nazwę tej pożywki
- należało wyjaśnić skrót PVS2 - (Plant Vitrification Solution)
- str. 24, niewłaściwe jest określenie „siewki kiełkujące z nasion”- raczej uzyskane z nasion

Przedstawione uwagi nie umniejszają wartości recenzowanej rozprawy, nie mają wpływu na jej ocenę i nie umniejszają istotnych osiągnięć pracy.

Artykuły naukowe wchodzące w skład pracy doktorskiej nie budzą żadnych zastrzeżeń. Wyniki tych prac podlegały ocenie przez wysokiej klasy specjalistów, recenzentów i wydawców.

Podsumowanie

Pani mgr Marta Urbaniec – Kiepura wykonała drobiazgowo, pracochłonne badania, na wysokim poziomie naukowym, których efektem było opracowanie procedury krioprezerwacji

nasion i wierzchołków wzrostu lili żółtych. Wykazano, że zdolność kiełkowania nasion poddanych krioprezerwacji wynosi od 77,5% do 100% a średni czas kiełkowania nasion ulega skróceniu z 40,7 dni do 34,4 dni. W przypadku wierzchołków wzrostu stopień ich przeżycia wynosił 50% do 100% a stopień regeneracji od 64,8% do 93,3%, w zależności od zastosowanej metody. Na uznanie zasługuje przeprowadzenie szczegółowej oceny fenotypowej, fizjologicznej i genetycznej uzyskanych regenerantów. Wykazano, że regeneranty nie różniły się fenotypowo od roślin matecznych. Ponadto nie stwierdzono zmian w procesie fotosyntezy i w wielkości genomu w stosunku do kontroli.

Chciałabym podkreślić profesjonalne podejście Doktorantki do wykonywanych eksperymentów i duży wkład pracy w realizację badań i analizę uzyskanych wyników. Recenzowaną pracę cechują walory nie tylko poznawcze ale także w dużej mierze praktyczne. Te ostatnie będą niewątpliwie wykorzystane do przechowywania lili żółtych w ciekłym azocie, w bankach genów do ochrony tego cennego gatunku *ex situ*.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Marty Urbaniec – Kiepusa, stanowiąca spójny tematycznie cykl 3. publikacji naukowych i 1. komunikatu, pod wspólnym tytułem "Krioprezerwacja nasion i wierzchołków wzrostu lili żółtych (*Lilium martagon* L.) jako metoda ochrony *ex situ*" **spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim** przez Ustawę z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, określone w artykule 13 Ustawy (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) oraz Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 roku w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2011, Nr 204, poz. 1200) i wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie o dopuszczenie mgr Marty Urbaniec – Kiepusa do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Lublin, 27.07.2017r.

Prof. dr hab. Danuta Kozak