

Warszawa, 8.11.2019 r.

Prof. dr hab. Anna Mikuła
Polska Akademia Nauk Ogród Botaniczny – CZRB w Powsinie
ul. Prawdziwka 2
02-973 Warszawa

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Moniki Cioć

pt. Wykorzystanie technologii SSL LED w rozmnażaniu klonalnym gerbery (*Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hoof. f.) i mirtu (*Myrtus communis* L.), wykonanej w Katedrze Roślin Ozdobnych i Sztuki Ogrodowej Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, pod kierunkiem naukowym dr hab. Bożeny Pawłowskiej, prof. UR oraz promotora pomocniczego dr inż. Krzysztofa Tokarza

1. Podstawa opracowania recenzji

Podstawą formalną recenzji jest pismo z dnia 7.10.2019 r., wystosowane przez prof. dr hab. Stanisława Mazura, Dziekana Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Celem recenzji jest stwierdzenie czy przedłożona rozprawa doktorska spełnia wymogi określone artykułem 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2016, poz. 882 z późn. zm.).

2. Opis formalny rozprawy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Moniki Cioć składa się z czterech spójnych tematycznie, anglojęzycznych publikacji, które ukazały się w latach 2018 i 2019. Trzy z nich zostały opublikowane w czasopismach notowanych w bazie JCR, tj. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* (Q1), *Agronomy* (Q1), *Horticulture, Environment and Biotechnology* (Q2), których wskaźniki bibliometryczne mieszczą się w przedziale od 1,193 do 2,259, a sumaryczny współczynnik oddziaływania wynosi 5,652. Czwarta publikacja ukazała się w czasopiśmie z listy B. **Dwa z artykułów opublikowanych w 2018 r. zostały już zacytowane 4 i 10 razy, co wskazuje, że podjęta przez Doktorantkę problematyka jest bardzo aktualna.**

Artykuły stanowiące recenzowaną rozprawę są 3-, 4- lub 5-autorskie, a zadeklarowany udział Doktorantki w ich powstaniu wynosi od 45 do 75%. Oświadczenia współautorów jednoznacznie wskazują dominującą rolę Doktorantki. W dwóch pracach jest Ona pierwszym autorem, zaś w trzech autorem korespondencyjnym. Autorka uczestniczyła we wszystkich etapach procesu powstawania prac, tj. w prowadzeniu doświadczeń, wykonywaniu eksperymentów, opracowywaniu wyników (w tym analiz statystycznych), przygotowywaniu manuskryptu, jak również prowadzeniu korespondencji z redakcją. **Zestawienie prac stanowiących rozprawę nie budzi więc żadnych wątpliwości co do wiodącej roli Doktorantki w ich powstaniu.**

Do niniejszej rozprawy, obok opublikowanych artykułów, dołączono 17-stronicowe podsumowanie. Jego wstęp porządkuje wiedzę na temat roli jakości i natężenia światła w regulacji wzrostu i rozwoju roślin w kulturach in vitro. Kolejne jego części przedstawiają założenia pracy, użyte metody i narzędzia badawcze oraz wykonane w ramach poszczególnych publikacji eksperymenty. Opis ten jest poprzedzony podsumowaniem obszernego dorobku naukowego wypracowanego w okresie 6 lat. Wykaz dorobku obejmuje,

poza 4 publikacjami stanowiącymi rozprawę, 6 prac niewchodzących w skład dysertacji. Dwie z nich zostały opublikowane w czasopiśmie z listy JCR, dwie w czasopiśmie z listy B, kolejne dwie to rozdziały w monografiach. IF tych prac wynosi 1,053, zaś punktów MNiSW 55. **Sumaryczny IF wszystkich prac Doktorantki wynosi 6,705, zaś liczba uzyskanych punktów MNiSW - 220.** Na dorobek mgr M. Cioć składa się ponadto współautorstwo w 18 doniesieniach konferencyjnych, które przedstawiono na 16 konferencjach (w tym 8 międzynarodowych). Jej wystąpienia były dwukrotnie nagrodzone przez organizatorów konferencji (w tym jednej międzynarodowej). Doktorantka uzyskała i realizuje swoje badania w ramach 2-letniego projektu NCN Preludium 14. Ponadto w 2016 i 2018 roku zrealizowała 2 programy badawcze z funduszy przyznawanych doktorantom w trybie konkursowym.

Przedstawiony wykaz aktywności naukowych wskazuje na duże zaangażowanie Doktorantki, które zostało dostrzeżone i wielokrotnie nagrodzone (np. zwiększonym stypendium naukowym lub stypendium dla najlepszych doktorantów) przez władze uczelni. Ponadto Doktorantka została wyróżniona Nagrodą Dla Młodych Badaczy przyznawaną raz na 3 lata przez Polskie Towarzystwo Botaniczne. **Z całą stanowczością mogę więc stwierdzić, że mgr Monika Cioć jest obiecującym młodym naukowcem, który chętnie publikuje i prezentuje wyniki swoich badań na konferencjach naukowych.**

Trudno jest natomiast ocenić stronę edytorską niniejszej dysertacji, która składa się z już opublikowanych prac, niemniej jednak całość rozprawy, tj. zarówno jej zwięzły opis, jak i 4 publikacje, cechuje jasny i zwięzły język, który jest przejrzysty i zrozumiały.

3. Ocena merytoryczna rozprawy

Przedmiot rozprawy i jego znaczenie

Światło jest jednym z najważniejszych czynników fizycznych, który poprzez stymulację wydajności fotosyntetycznej wpływa na wzrost i plonowanie roślin. W uprawach polowych, natężenie i widmo spektralne światła zależą od położenia geograficznego, pory roku i dnia, pozostają poza możliwością kontroli. Czynniki te można jednak sterować w uprawach pod osłonami oraz w warunkach kultur in vitro. Precyzyjne dopasowanie składu spektralnego światła i intensywności promieniowania (PPFD) do wymagań badanego gatunku zapewniają diody elektroluminescencyjne zw. LED (light-emitting diode), którymi od niedawna zastępują się lampy tradycyjne (sodowe, fluorescencyjne). Wykorzystanie na stałe tego typu oświetlenia wymaga jednak jeszcze dogłębnego poznania specyficznych reakcji poszczególnych roślin na parametry świetlne i ich wpływu na efektywność fotosyntetyczną. **Z tego względu tematyka podjęta w przedstawionej rozprawie doktorskiej jest jak najbardziej aktualna, a uzyskane wyniki wnoszą wiele nowych informacji naukowych o roli różnej barwy światła emitowanego przez diody LED w modyfikowaniu wzrostu i rozwoju roślin in vitro.** Badania mgr M. Cioć mają także duże znaczenie praktyczne i mogą być wykorzystane w komercyjnych laboratoriach i uprawach pod osłonami.

Cel rozprawy, obiekt badań i zastosowane metody badawcze

Głównym celem badań podjętych przez Doktorantkę była ocena odpowiedzi roślin namnażanych w warunkach in vitro na światło emitowane przez diody LED o zróżnicowanej jakości i natężeniu. Gerbera i mirt wybrane jako obiekty eksperymentów są roślinami o istotnym znaczeniu użytkowym. Gerbera znajduje się w ścisłej czołówce najczęściej sprzedawanych kwiatów ciętych, a ostatnio także doniczkowych. Usprawnienie metod uprawy szklarniowej, podobnie jak poszerzenie różnorodności form i kolorów, jest kluczowe dla sprostania rosnącemu zapotrzebowaniu na tę popularną roślinę. W przypadku mirtu, Doktorantka wprowadzając do badań tę nieco zapomnianą roślinę o walorach ozdobnych

i leczniczych, otworzyła sobie nowe pole eksperymentowania w zakresie oddziaływania światła na produkcję metabolitów wtórnych.

W badaniach testowano różne rodzaje światła monochromatycznego (czerwone, niebieskie, białe, daleka czerwień oraz mieszane w różnych proporcjach), różne jego natężenie, a także reakcję roślin na światło w zależności od użytego w pożywce stężenia cytokininy BA. Otrzymanie pożądanego składu spektralnego oraz utrzymanie wymaganych parametrów na stałym poziomie było możliwe dzięki specjalnie zaprojektowanym przez firmę PXM Marek Żupnik panelom LED. Badania prowadzono na wszystkich kluczowych dla procesu mikrorozmnażania etapach tj. podczas namnażania pędów, ich ukorzeniania i aklimatyzacji roślin. Reakcje roślin badano na poziomie morfogenetycznym, fizjologicznym i biochemicznym. W celu opisanego odpowiedzi na modyfikowane warunki kultury *in vitro* Doktorantka określała współczynnik namnażania pędów i korzeni, wysokość pędów i roślin, liczbę liści, długość korzeni, świeżą i suchą masę liści i korzeni, architekturę liści. Dodatkowo, dla pogłębienia wiedzy na temat wpływu warunków świetlnych na aklimatyzację roślin, zostały oszacowane powierzchnia i liczba aparatów szparkowych. W tym celu Doktorantka opracowała metodę wykonywania odcisków dolnej strony epidermy liścia. Efektem tej pracy są mikroskopowe obrazy odcisków zamieszczone w publikacji nr 3, które wiernie odzwierciedlają kształt komórek epidermy oraz aparatów szparkowych. Z wykorzystaniem metod spektrofotometrycznych Doktorantka określała poziom barwników fotosyntetycznych (chlorofil *a*, *b*, karotenoidy) u gerbery i mirtu, zaś chromatografię cieczową zastosowała w celu oszacowania zmian w zawartości metabolitów wtórnych w mircie, takich jak flawonoidy (katechiny, mirycetyny, epigallokatechiny i galusan epigallokatechiny) i kwasy fenolowe (kwas galusowy, protokatechowy i p-hydroksybenzoesowy).

Dobór materiału roślinnego oraz zastosowanych metod badawczych oceniam jako odpowiedni, co pozwoliło Doktorantce zweryfikować prawdziwość postawionej hipotezy i zrealizować założone cele. Doświadczenia zaplanowano z dużą starannością, w sposób ograniczający błędy analityczne i interpretacyjne. W badaniach Doktorantka wykazała się znajomością technik kultur *in vitro*, metod spektroskopowych i chromatograficznych oraz specjalistycznych metod analizy statystycznej, których wykorzystanie znacząco podniosło wartość uzyskanych wyników.

Osiągnięcia badawcze

W publikacji nr 1. Doktorantka po raz pierwszy wykazała, że za pomocą jakości światła można sterować biosyntezą metabolitów wtórnych mirtu produkowanych w pędach utrzymywanych w warunkach *in vitro*. Światło czerwone LED nie tylko podnosiło efektywność namnażania pędów, ale również stymulowało produkcję metabolitów wtórnych, w tym mirycetyny. Reakcja ta była uzależniona od obecności cytokininy BA w pożywce. **Chciałabym się dowiedzieć, dlaczego w badaniach nad metabolitami w mircie Doktorantka nie uwzględniła kontroli zewnętrznej np. w postaci rośliny szklarniowej?**

W kolejnej pracy badania poszerzono o modyfikacje składu światła LED stosując w odpowiednich proporcjach spektrum pasma czerwonego, niebieskiego i białego lub dalekiej czerwieni. Efekt wpływu tych modyfikacji określono oceniając zdolność wzrostu i rozwoju pędów *Gerbera jamesonii* 'Dura' oraz ich ukorzeniania. Wykazano, że oba te etapy, kluczowe dla produkcji roślin *in vitro*, można stymulować warunkami oświetlenia. W żadnej z opisanych kombinacji Doktorantka nie pokusiła się jednak o zastosowanie pożywki kontrolnej pozbawionej regulatorów wzrostu. Stąd stawiam pytanie **czy odpowiednio skompilowane światło mogłoby zastąpić standardowo dodawane do pożywki regulatory**

wzrostu (np. IAA w pożywce do ukorzenia pędów), które nie zawsze korzystnie oddziałują na materiał roślinny?

Badania powadzone w ramach publikacji nr 3. są dedykowane aklimatyzacji roślin, tj. etapowi, który często skutkuje utratą znaczącej ilości materiału roślinnego otrzymanego w kulturach *in vitro*. W przypadku niniejszych badań, wybrany obiekt, którym była *G. jamesonii* „Big Apple” aklimatyzował się w 100%, niezależnie od warunków oświetlenia. Eksperymenty dostarczyły dowodów, że światło niebieskie stymuluje liczbę i długość korzeni, jak również liczbę i parametry biometryczne liści tego gatunku, co przekłada się ostatecznie na otrzymywanie lepszej jakości roślin.

W ostatniej pracy Autorka skupiła się na zbadaniu wpływu trzech wartości natężenia światła mieszanego (70% czerwonego i 30% niebieskiego) na odpowiedź morfogenetyczną i fizjologiczną pędów *G. jamesonii* „Big Apple”. Potwierdziła występowanie interakcji pomiędzy natężeniem światła a stężeniem cytokininy w pożywce. Ważnym aspektem poruszonym w tej pracy są względy ekonomiczne stosowania światła LED.

Przedstawione w rozprawie eksperymenty zostały starannie zaplanowane, a uzyskane wyniki są ciekawe, poprawnie przeanalizowane i opisane. Doktorantka wykazała się głęboką znajomością literatury, którą umiejętnie wykorzystwała w czasie planowania doświadczeń, opisywania wyników i prowadzenia dyskusji. Dyskusje w przedstawionych publikacjach są tą częścią prac, którą czyta się z ogromną przyjemnością. Są one wyznacznikiem dojrzałości naukowej Doktorantki. Cytowana literatura pochodzi w większości z okresu ostatnich dwóch dekad, jest ściśle związana z poruszonymi problemami badawczymi i stanowi doskonale kompendium wiedzy dla czytelnika.

Za najważniejsze osiągnięcia Doktorantki w ocenianej rozprawie uważam:

- 1) wykazanie, że za pomocą światła emitowanego przez diody elektroluminescencyjne można modyfikować odpowiedź morfogenetyczną, fizjologiczną i biochemiczną materiału roślinnego;
- 2) udokumentowanie, że dzięki diodom LED możliwe jest precyzyjne dopasowanie jakości i natężenia światła, a tym samym sterowanie efektywnością produkcji roślin (gerbery i mirtu) i biosyntezy polifenoli (mirtu). Reakcja ta jest pozytywnie sprzężona ze stężeniem cytokininy w pożywce.
- 3) wykazanie, że światło LED może z powodzeniem zastąpić tradycyjnie używane do doświetlania kultur roślinnych lampy fluorescencyjne, przyczyniając się przy tym do wielokrotnego obniżenia kosztów produkcji roślin.

Chciałabym prosić Doktorantkę o odpowiedź na następujące kwestie związane z tematyką pracy:

- 1) Czy Doktorantce znane są przykłady prac, w których modyfikując jakość i/lub intensywność światła zmieniano drogę regeneracji roślin w kulturach *in vitro*, np. z organogenezy na somatyczną embriogenezę lub odwrotnie?
- 2) Czy za pomocą światła można modyfikować produkcję metabolitów wtórnych innych niż badane w pracy polifenole, które w dużym stopniu są efektem odpowiedzi na stres?

4. Podsumowanie

Przedstawiona rozprawa doktorska jest wartościowym dziełem, w którym Autorka logicznie zaplanowała i konsekwentnie zrealizowała postawione cele. Dla ich osiągnięcia wykorzystwała właściwie dobrany materiał roślinny i metody badawcze. W opisywaniu

wyników wykazała się umiejętnością właściwego wnioskowania i dyskusowania w oparciu o aktualną wiedzę literaturową. W konsekwencji rozprawa skutkuje opracowaniem ważnego problemu naukowego pogłębiającego wiedzę na temat wpływu światła LED na rośliny.

Oceniając całokształt rozprawy doktorskiej mgr Moniki Cioć stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz.1789). W związku z tym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego prowadzących do nadania stopnia doktora nauk rolniczych.

Biorąc pod uwagę rangę uzyskanych wyników, wysoki poziom naukowy prac stanowiących rozprawę doktorską, które zostały opublikowane w renomowanych czasopiśmie międzynarodowych, jak również dojrzałość naukową Doktorantki, która jest niezwykle aktywna w zakresie publikowania i upowszechniania wyników swoich badań, wnioskuję do Rady Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie o przyznanie wyróżnienia przedłożonej mi do oceny rozprawy doktorskiej.

prof. dr hab. Anna Mięka