

Instytut Badawczy Leśnictwa
Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3
05-090 Raszyn
(nazwa i dane adresowe podmiotu habilitującego,
wybranego do przeprowadzenia postępowania)
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Teresa Hazubska-Przybył
(imię i nazwisko wnioskodawcy)

Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk
(miejsce pracy/jednostka naukowa)

Wniosek

z dnia 25.04.2022 roku

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie¹ nauki leśne.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

„Somatyczna embriogeneza i kriokonserwacja kultur embriogenych *P. omorika* (Pančić) Purk.) i *Picea abies* (L.) H.Karst) przy zastosowaniu metody stopniowej dehydratacji”

Wnoszę – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **tajnym/jawnym**^{*2}

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl, tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art.

232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenia postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html

Teresa Hazubska-Przybył
(podpis wnioskodawcy)

¹ Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).

² * Niepotrzebne skreślić.

Załączniki:

1. Dane wnioskodawcy
2. Dyplom
3. Autoreferat
4. Wykaz osiągnięć
5. Wykaz prac stanowiących osiągnięcie naukowe
6. Wykaz pozostałych opublikowanych prac
7. Oświadczenia współautorów prac
8. Wyróżnienie plakatu

Załącznik nr 3

dr Teresa Hazubska-Przybył

Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk
Zakład Biologii Rozwoju

AUTOREFERAT

przedstawiający życiorys naukowy wnioskodawcy oraz osiągnięcie naukowe, zgłaszane jako przedmiot postępowania habilitacyjnego oraz pozostałe osiągnięcia naukowe

Kórnik, 2022

1. Imię i nazwisko

TERESA HAZUBSKA-PRZYBYŁ

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2005 **Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku**

Pracownia Rozmnażania Wegetatywnego

Dyscyplina: **Biologia**

Stopień: **doktor nauk biologicznych** (20.06.2005)

Tytuł pracy: „Mikrorozmnażanie wybranych gatunków świerka (*Picea abies*, *P. omorika*, *P. pungens* ‘Glauca’, *P. breweriana*) metodą somatycznej embriogenezy”

Promotor: prof. dr hab. Krystyna Bojarczuk

1998 **Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu**

Wydział Biologii

Specjalność: **Biologia środowiska**

Tytuł: **magister biologii** (07.07.1998)

Tytuł pracy: „Stan roślinności fragmentu lewobrzeżnej doliny Warty przy północnym przedmieściu Puszczykowa”

Promotor: prof. dr hab. Janina Borysiak

Ważniejsze kursy i szkolenia:

2009 **Muzeum i Instytut Zoologii Polskiej Akademii Nauk w Warszawie**
„Sekwencjonowanie i analiza metylacji DNA”

- 2007 **Instytut Genetyki Człowieka PAN i Akademia Rolnicza w Poznaniu**
XIX Szkoła Letnia „Postępy Biologii Molekularnej”
- 1996 - 1998 **Studium Pedagogiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza**
w Poznaniu
Wydział Biologii
Uzyskanie kwalifikacji pedagogicznych do nauki biologii
- 1997 **Studium Doskonalenia Menedżerskiego w Kaliszu**
Kurs Przygotowawczy dla Kandydatów na Wychowawców
Placówek Wypoczynku dla Dzieci i Młodzieży
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.
- od 2018 -
aktualnie **Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk**
Zakład Biologii Rozwoju
Adiunkt
- 2006 - 2018 **Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku**
Pracownia Rozmnażania Wegetatywnego
Biolog
- 2001 - 2005 **Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku**
Doktorantka
- 1998 - 2001 **Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk w Kórniku**
Zakład Dendrologii Stosowanej
Pracownia Mnożenia Wegetatywnego
Młodszy technik dokumentalista
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie,

w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

„Somatyczna embriogeneza i kriokonserwacja kultur embriogennych *P. omorika* (Pančić) Purk. i *Picea abies* (L.) H.Karst. przy zastosowaniu metody stopniowej dehydratacji”

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

- 1. Hazubska-Przybył T., Ratajczak E., Kalemba E., Bojarczuk K. 2013.** Growth regulators and guaiacol peroxidase activity during the induction phase of somatic embryogenesis in *Picea* species. *Dendrobiology* 69: 77-86.

IF_{5-letni} - 1,305; IF₂₀₁₃ - 0,525; MEiN₂₀₂₁ - 100

- 2. Hazubska-Przybył T., Ratajczak E., Obarska A., Pers-Kameczyc E. 2020.** Different Roles of Auxins in Somatic Embryogenesis Efficiency in Two *Picea* Species. *International Journal of Molecular Sciences* 21(9): 3394. doi:10.3390/ijms21093394.

IF_{5-letni} - 6,132; IF₂₀₂₀ - 5,924; MEiN₂₀₂₁ - 140

- 3. Hazubska-Przybył T., Kalemba E.M., Ratajczak E., Bojarczuk K. 2016.** Effects of abscisic acid and osmoticum on the maturation, starch accumulation and germination of *Picea* spp. somatic embryos. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 59. doi: 10.1007/s11738-016-2078-x.

IF_{5-letni} - 2,711; IF₂₀₁₆ - 1,364; MNiE₂₀₂₁ - 70

- 4. Hazubska-Przybył T., Chmielarz P., Michalak M., Bojarczuk K. 2010.** Cryopreservation of embryogenic tissues of *Picea omorika* (Serbian spruce). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 102 (1): 35-44.

IF_{5-letni} - 2,730; IF₂₀₁₀ - 1,243; MEiN₂₀₂₁ - 100

5. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M., Dering M., Bojarczuk K. 2013. Survival and genetic stability of *Picea abies* embryogenic cultures after cryopreservation using a pregrowth-dehydration method. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 113 (2): 303-313.

IF_{5-letni} - 2,730; IF₂₀₁₃ - 2,612; MEiN₂₀₂₁ - 100

Łączny wymiar punktowy wyżej wymienionych pięciu publikacji, według wykazu czasopism naukowych z 1 grudnia 2021 roku, to **510**. Sumaryczny IF publikacji (według roku wydania) wynosi **11,688**.

c) Wprowadzenie

Świerk serbski to stary, reliktowy gatunek świerka szczególnie wrażliwy na zmiany klimatu. Obecnie jego występowanie jest ograniczone do regionu zajmującego ok. 100 km², zlokalizowanego wokół środkowego biegu rzeki Driny w środkowym, górzystym regionie Bałkanów, na granicy Republiki Serbskiej, Bośni i Hercegowiny. Na tym obszarze stwierdzono występowanie zaledwie ok. 30 populacji różnej wielkości. Dlatego uznaje się, że ten gatunek świerka jest bardzo rzadki i jednocześnie poważnie zagrożony (Ballian 2006, Ivetić i Aleksić 2019). Ostatnie badania wykazały negatywny wpływ długotrwałego zjawiska suszy na wzrost tych drzew w ciągu ostatnich 30-40 lat (Dell'Oro i in. 2020). Ze względu na obecny stan populacji świerka serbskiego, jak i ekstremalne zjawiska klimatyczne oraz słabą naturalną regenerację tego gatunku, koniecznością staje się podjęcie działań ochronnych *in situ* i *ex situ*. Jednakże działania *in situ* mogą mieć efekt krótkotrwały, stąd konieczne są wszelkie działania *ex situ* (np. wspomaganie migracji gatunku), ponieważ istnieje wysokie prawdopodobieństwo, że świerk serbski zniknie ze swoich naturalnych siedlisk w najbliższej przyszłości z powodu gwałtownych zmian klimatycznych (Ivetić i Aleksić 2019).

Świerk pospolity cechuje się natomiast szerokim naturalnym zasięgiem geograficznym, który obejmuje strefę lasów borealnych od Skandynawii po Ural oraz obszary górskie strefy umiarkowanej (Montwé i in. 2014). Gatunek ten jest także uprawiany poza swoim naturalnym zasięgiem występowania w cieplejszych i suchszych regionach Europy, w celach komercyjnych (Skrøppa 2003). Świerk pospolity jest podstawowym gatunkiem w gospodarce leśnej w wielu krajach europejskich takich jak: Szwecja, Finlandia, Polska i kraje bałtyckie. Wartościowe drewno tego gatunku świerka jest wykorzystywane głównie do produkcji celulozy

oraz w przemyśle budowlanym. Jednakże w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat zmiany klimatu znacząco wpłynęły na stan europejskich lasów borealnych i leśnictwa (Subramanian i in. 2016, Sierota i in. 2019). Obecnie świerk pospolity należy do jednego z najbardziej zagrożonych gatunków drzew leśnych skutkami zmian klimatu. Przewiduje się, że w ciągu najbliższych kilkudziesięciu lat jego występowanie w Europie ulegnie znacznemu zmniejszeniu (Dyderski i in. 2018).

Jednym z efektów postępujących zmian klimatycznych będzie ograniczenie zdolności rozmnażania generatywnego obu tych gatunków świerka. W konsekwencji jeszcze większego znaczenia w produkcji sadzonek gatunków drzew leśnych nabiorą metody oparte na rozmnażaniu wegetatywnym, czyli na pozyskiwaniu nowych osobników poprzez regenerację z fragmentu organizmu macierzystego. Obecnie metody te są już szeroko stosowane w szkółkarstwie leśnym, w szczególności w takich krajach, jak Kanada, Nowa Zelandia czy rzadziej w krajach europejskich, np. Norwegia, Wielka Brytania, Francja i Niemcy (Grossnickle 1999, Lelu-Walter i in. 2013, Egertsdotter 2019). Rozmnażanie wegetatywne stosowane jest w leśnictwie ze względu na kilka czynników: późne osiągnięcie przez drzewa zdolności do wytwarzania nasion, okresowe występowanie kwitnienia i obradzania nasion, pogorszenie stanu zdrowotnego lub zamieranie cennych populacji. Przede wszystkim jednak metody rozmnażania wegetatywnego stosuje się w celu rozmnożenia nowych form roślin otrzymanych na drodze krzyżowania, jak i w celu uzyskania wegetatywnego potomstwa drzew doborowych i elitarnych do zakładania plantacji nasiennych. W leśnictwie dodatkową zaletą tego sposobu rozmnażania jest możliwość szybkiego wprowadzenia do praktyki wyników selekcji drzew (Szczygieł 2005).

Tradycyjne metody rozmnażania wegetatywnego drzew (ukorzenie zrzezów pędowych lub korzeniowych, szczepienie, odrosty, odkłady) mają jednak pewne ograniczenia. Wymagają one m.in. konieczności stosowania mateczników, które w celu zachowania zdolności do regeneracji przez rośliny mateczne muszą być odpowiednio pielęgnowane. Ich efektywność jest wysoka tylko w przypadku pozyskiwania materiału z młodych roślin matecznych. U drzew gatunków iglastych występuje często u otrzymanych sadzonek wegetatywnych wzrost plagiotropowy, a przy szczepieniu dochodzi na ogół do wyrastania z podkładek pędów, które konkurują ze zrazami. Dodatkowo, w przypadku metod tradycyjnych wydajność rozmnażania z jednego osobnika matecznego jest bardzo ograniczona (Szczygieł 2005, Rosvall 2019). Ograniczeniem są również wysokie koszty produkcji sadzonek przy zastosowaniu wegetatywnych metod rozmnażania. Przykładowo, w Finlandii i Szwecji świerk pospolity rozmnaża się rutynowo poprzez metodę cięcia korzeni. Jednakże z powodu

wysokich kosztów metoda ta nie została, jak dotąd, wprowadzona do masowej produkcji roślin (Högberg i Varies 2016).

Potencjalnie znacznie wyższą wydajnością rozmnażania drzew leśnych charakteryzują się natomiast metody oparte na mikrorozmnażaniu, a wśród nich szczególnie somatyczna embriogeneza. Metoda ta polega na formowaniu i rozwoju zarodków z komórek wegetatywnych (somatycznych) z pominięciem procesu zapłodnienia i zygoty. Podstawową zaletą metody somatycznej embriogenezy jest jej olbrzymi potencjał regeneracji roślin ulepszonych genetycznie oraz możliwość selekcji i masowego rozmnażania elitarnych genotypów. Podczas selekcji siewek somatycznych uwzględniane są parametry stosowane w tradycyjnej hodowli i selekcji drzew (forma, wzrost, jakość drewna, odporność na szkodniki i choroby). Metoda ta pozwala ponadto na dostarczenie do szkółek materiału sadzeniowego w stosunkowo krótkim czasie od momentu zaindukowania kultur, od 12 do 18 miesięcy w zależności od rozmnażanego gatunku drzewa (Cyr i in. 2001). Dodatkowo somatyczna embriogeneza pozwala na zwiększenie różnorodności materiału roślinnego rozmnażanego w sposób wegetatywny w porównaniu z tradycyjnym ukorzeniem sadzonek. Dzięki tej metodzie istnieje możliwość wygenerowania niemal nieograniczonej liczby ramet z uzyskanej linii embriogennej (klonu), jak i uzyskania kilku ramet z dużej liczby tego typu linii (Rosvall 2019). Inną strategią jest wykorzystanie somatycznej embriogenezy do produkcji roślin donorowych wybranych klonów, bądź też potomstwa, celem wspomagania rozmnażania poprzez cięcie materiału szkółkarskiego (Bonga 2015). Zysk genetyczny jaki uzyskuje się w krótkim czasie, stosując metodę somatycznej embriogenezy, jest znacznie wyższy w porównaniu z tradycyjnymi metodami. W przyszłości ważnym zastosowaniem somatycznej embriogenezy byłoby rozmnażanie drzew z tkanek somatycznych, pochodzących ze starszych testowanych drzew, ponieważ dają one lepszą możliwość prognozowania wydajności produkcji w okresie rotacji aniżeli drzewa młode (Rosvall 2019).

Przed zastosowaniem metody somatycznej embriogenezy na skalę gospodarczą poszczególne etapy mnożenia materiału są poddawane szczegółowej analizie (Grossnickle i Major 1994, Park 2001), tak aby opracować odpowiednią metodykę, która zapobiegałaby utracie genotypów podczas całego procesu rozwoju somatycznych roślin. Głównym celem takich badań jest uzyskanie licznych zarodków w dojrzałym, liścieniowym stadium, które byłyby identyczne pod względem morfologicznym i fizjologicznym z zarodkami zygotycznymi pochodzącymi z nasion oraz ostatecznie funkcjonalnych somatycznych siewek, spełniających takie same kryteria, jak materiał sadzeniowy pochodzący z nasion. Dodatkową zaletą jest możliwość rozmnażania tą metodą genotypów o unikatowym charakterze.

Obecnie materiał sadzeniowy kilku gatunków drzew leśnych, produkowany metodą somatycznej embriogenezy, stosowany jest do zakładania upraw leśnych w Kanadzie, Stanach Zjednoczonych czy Nowej Zelandii (Grossnickle 1999, Egertsdotter 2019) w ramach tzw. leśnictwa klonalnego (*ang. clonal forestry*). Jak dotąd jednak, rozmnażanie w oparciu o tę metodę prowadzone jest głównie przez sektor prywatny i przedsiębiorstwa leśne (Lelu-Walter i in. 2013).

W literaturze światowej niewiele uwagi poświęcono badaniom nad somatyczną embriogenezą świerka serbskiego. Kilka doniesień w tym zakresie ukazało się na przełomie lat dziewięćdziesiątych dwudziestego wieku i lat dwutysięcznych (Budimir i Vujić 1992, Kolevska-Pletikapić i in. 1995, Salopek i in. 1997, Tramišak-Milaković i in. 1999, Leljak-Levanić i in. 2009). Ze względu na narastający problem związany z zagrożeniem występowania naturalnych stanowisk tego gatunku świerka i konieczność podjęcia działań *ex situ* w celu jego ochrony, niezbędne są dalsze badania nad możliwością zachowania jego zasobów genowych m.in. w oparciu o dostępne narzędzia biotechnologiczne takie jak somatyczna embriogeneza i kriokonserwacja.

Z kolei badania nad somatyczną embriogenezą świerka pospolitego są intensywnie prowadzone od momentu uzyskania jego pierwszych somatycznych siewek w 1985 roku (Hakman i in. 1985, Chalupa 1985). Pomimo tego wiele problemów związanych z wydajnością procesu somatycznej embriogenezy u tego gatunku świerka nadal nie zostało rozwiązanych (Hudec i in. 2016, Salonen i in. 2017, Dahrendorf i in. 2018). Uniemożliwia to masową produkcję jego sadzonek somatycznych, zarówno w celach komercyjnych, jak i dla gospodarki leśnej. W związku z powyższym studia nad tym sposobem mikrorozmnażania świerka pospolitego wciąż wymagają kontynuacji (Hudec i in. 2016, Carlsson i in. 2019, Varies i in. 2021). Obecnie dla wielu badaczy stanowi on gatunek modelowy w badaniach nad różnymi aspektami somatycznej embriogenezy gatunków drzew iglastych.

d) Cel badań

Celem badań było określenie wpływu warunków prowadzenia kultury na efektywność poszczególnych etapów somatycznej embriogenezy świerka serbskiego i pospolitego jako gatunku kontrolnego oraz określenie skuteczności stopniowego odwadniania tkanek embriogennych w ich przechowywaniu w ciekłym azocie.

Realizując postawiony cel badań chciałam zweryfikować postawione hipotezy.

e) Hipotezy badawcze

1. Kombinacje regulatorów wzrostu (auksyny:cytokinina) determinują poziom indukcji somatycznej embriogenezy, późniejszy rozwój i jakość somatycznych zarodków oraz siewek obu gatunków świerka [1] i [2].
2. Peroksydaza gwajakolowa będzie wykazywała niską aktywność podczas indukcji i namnażania tkanek embriogennych obu gatunków świerka, w obecności określonych regulatorów wzrostu [1] i [2].
3. Warunki hodowli, zastosowane podczas dojrzewania somatycznych zarodków, będą miały podobny wpływ na ich rozwój oraz zdolność do kiełkowania u obu gatunków świerka [3].
4. Stopniowe odwodnienie tkanki embriogennej *Picea* spp. pozwoli na efektywne przechowanie tkanek w ciekłym azocie [4] i [5].
5. Tkanka embriogenna świerka pospolitego będzie wykazywała stabilność genetyczną po jej kriokonserwacji, opartej na stopniowym odwadnianiu tkanki [5].

f) Opis uzyskanych wyników

Somatyczna embriogeneza to złożony, wieloetapowy proces rozwoju somatycznego zarodka determinowany zarówno kompetencją eksplantatu, z którego indukowana jest kultura embriogenna, jak i szeregiem warunków fizyko-chemicznych. Z tego względu wymaga ona dokładnego opracowania odrębnych procedur, na każdym z etapów rozwoju somatycznego zarodka, poczynając od indukcji tkanki embriogennej, poprzez jej namnażanie, dojrzewanie zarodków i ostateczny rozwój somatycznej siewki. Warte podkreślenia jest to, że każdy gatunek, a nawet genotyp, wymaga osobnego potraktowania, ponieważ wypracowane protokoły nie są uniwersalne, co w konsekwencji powoduje, że badania nad somatyczną embriogenezą drzew nie są szeroko rozpowszechnione. **Prowadzone przeze mnie od wielu lat badania nad procesem somatycznej embriogenezy gatunków drzew iglastych, które trudno jest rozmnożyć w sposób wegetatywny, mają zatem charakter unikatowy w skali światowej. Należy podkreślić, że badania te mają ponadto charakter interdyscyplinarne.** Po pierwsze, obejmują one swoim zakresem aspekty badań podstawowych, związanych z poznaniem biologii rozwoju somatycznych zarodków gatunków drzew iglastych na poziomie fizjologicznym, biochemicznym i molekularnym. Po drugie, mają wymiar aplikacyjny, ze względu na możliwość wykorzystania efektywnych procedur

w masowej produkcji somatycznych sadzonek dla gospodarki leśnej, w oparciu o kultury *in vitro*.

1. Wykazanie oddziaływania określonych kombinacji regulatorów wzrostu (auksyny:cytokinina) na indukcję somatycznej embriogenezy, późniejszy rozwój i jakość somatycznych zarodków oraz siewek świerka serbskiego i pospolitego [H1].

Moje wcześniejsze badania nad somatyczną embriogenezą czterech gatunków świerka: *Picea abies*, *P. omorika*, *P. pungens* 'Glauca' i *P. breweriana*, wykonane w ramach pracy doktorskiej, wykazały możliwość uzyskania pełnego procesu somatycznej embriogenezy dla świerka serbskiego i pospolitego, poczynając od indukcji tkanek embriogennych z dojrzałych zygotycznych zarodków, poprzez dojrzewanie zarodków somatycznych i regenerację somatycznych sadzonek (Załącznik 4, II pkt 4.A8). Regulatory wzrostu, takie jak auksyny i cytokininy, są głównymi czynnikami wpływającymi na proces somatycznej embriogenezy u większości gatunków drzew iglastych i ostatecznie decydują one w znacznej mierze o przebiegu tego procesu u tych roślin (Jimenez i Thomas 2006).

Zgodnie z wynikami moich wcześniejszych badań, spośród trzech auksyn: 2,4-D (kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy), NAA (kwas naftylo-1-octowy) i Pikloramu (4-amino-3,5,6-trichloropikolinowy), dodawanych do pożywki na etapie indukcji i namnażania tkanek embriogennych świerków w stężeniu 9 μM , najwyższą częstotliwość indukcji tkanek i najintensywniejszy ich wzrost obserwowano w obecności Pikloramu (Załącznik 4, II pkt 4.A7 i 8). Ponieważ wzajemna proporcja auksyn i cytokinin decyduje o kierunku zmian morfogenetycznych w kulturach *in vitro* (Schenk i Hildebrandt 1972), dlatego kolejnym etapem moich badań było zanalizowanie czy zastosowanie cytokininy BA (6-benzyloadenina) w jednym z trzech stężeń: 2,2, 4,5 lub 8,8 μM wraz z wyżej wymienionymi auksynami będzie miało znaczący wpływ na dwa pierwsze etapy somatycznej embriogenezy u obu badanych gatunków świerka [1]. U drzew gatunków iglastych auksyny i cytokininy dodawane do pożywek warunkują wyzwolenie kompetencji embriogennych w eksplantatach oraz wpływają na dalszy rozwój zarodków. Efektem działania auksyn w kulturze *in vitro* jest stymulacja podziałów komórkowych, która prowadzi do tworzenia niezorganizowanej tkanki kalusowej. Obecność endo- lub egzogennej auksyny jest niezbędna dla przebiegu licznych podziałów komórkowych. Równoczesny dodatek cytokininy do pożywek zawierających auksynę przyspiesza wzrost kalusa. W określonych warunkach egzogennie podana auksyna nadaje niektórym komórkom kalusa lub komórkom eksplantatów pierwotnych, pobranych

bezpośrednio z rośliny, cechy embriogenne. Dochodzi wówczas do tworzenia się struktur o biegunowej budowie, które w kolejnych fazach, po zastąpieniu auksyn i cytokininy kwasem abscysynowym (ABA), przechodzą kolejne stadia rozwojowe (globularne, torpedy i liścieniowe), takie jak zarodek zygocytowy. W przypadku *Picea abies* [1] uzyskano najwyższą częstotliwość indukcji tkanki embriogennej dla *P. abies* (13.00%) przy zastosowaniu w pożywce kombinacji Pikloramu i BA odpowiednio w stężeniach 9 i 4,5 μM [1]. Natomiast w przypadku *P. omorika* najwyższa częstotliwość wynosiła 12,22 dla 2,4-D, w stężeniu 9 μM , i BA, w stężeniu 8.8 μM . Uzyskane wyniki nie wykazały statystycznie istotnych różnic w częstotliwości indukcji tkanki embriogennej dla obu testowanych gatunków świerka w obecności różnych stężeń cytokin i trzech typów auksyn. Podobną tendencję obserwowano [2] przy zastosowaniu tych samych auksyn i cytokininy w stężeniu 4,5 μM . Uzyskane wyniki również nie wykazywały statystycznie istotnych różnic między zastosowanym zestawem regulatorów wzrostu a częstotliwością indukcji tkanki embriogennej. **Z przeprowadzonych badań wynika [2], że eksplantaty *P. abies* mogą być bardziej podatne na działanie Pikloramu, który znacznie rzadziej stosuje się do zaindukowania somatycznej embriogenezy u gatunków drzew iglastych w porównaniu z powszechnie stosowanym 2,4-D, co uzasadniałoby zastosowanie tej auksyny do indukcji embriogenezy somatycznej u tego gatunku świerka.** Przejście od etapu indukcji tkanki embriogennej do jej namnażania wiąże się na ogół ze znaczną utratą uzyskanych linii embriogennych. W efekcie dochodzi do niepożądanego zawężenia puli genowej uzyskanego materiału. Dlatego zbadano na jakim etapie prowadzenia kultury zaindukowane linie tracą zdolność do namnażania i czy zastosowane auksyny wraz z BA (4,5 μM) wpływają na zdolność namnażania tkanek w dłuższym czasie. Przeprowadzone obserwacje wykazały, że większość linii obu gatunków świerka (do 84% linii *P. abies* i do 87% linii *P. omorika*) nie była zdolna do namnażania dłużej niż przez 10 pasaży (pasaże prowadzono co 10-11 dni). Test Chi^2 wykazał, że rodzaj zastosowanych auksyn nie wpływał na procent linii zdolnych do namnażania w kulturze *in vitro* przez więcej niż rok (40 pasaży). Stwierdzono jednak, że najwięcej linii w przypadku *P. abies* (ok. 30%) namnażało się przez ten czas w obecności 2,4-D, natomiast w przypadku *P. omorika* (17%) w obecności NAA [2].

Z kolei zarówno intensywność wzrostu tkanek embriogennych, jak i obecność tzw. struktur proembriogennych w zaindukowanych tkankach, mają znaczący wpływ na ich potencjał embriogeny (produktywność) w kolejnym etapie somatycznej embriogenezy – dojrzewaniu somatycznych zarodków. Ma to szczególne znaczenie zwłaszcza podczas prowadzenia hodowli opartej na kulturach zawieszinowych i w różnego typu

bioreaktorach, dzięki którym jest możliwa częściowa automatyzacja procesu somatycznej embriogenezy (Egertsdotter 2019). **Dlatego ważne jest określenie wpływu różnych typów auksyn i cytokinin na ten proces już w kulturach o podłożu stałym.** Uzyskane wyniki [1] dowodzą, że najwyższy przyrost masy tkanki świerka pospolitego po 21 dniach kultury na pożywce namnażającej uzyskano po zastosowaniu do pożywki Picloramu ($9 \mu\text{M}$) i BA ($4,5 \mu\text{M}$). W przypadku tkanki świerka serbskiego najwyższy przyrost masy zaobserwowano również po zastosowaniu Picloramu ($9 \mu\text{M}$), ale w obecności najniższego stężenia BA ($2,2 \mu\text{M}$). Zatem obniżenie stężenia cytokininy do wartości $2,2 \mu\text{M}$ w największym stopniu sprzyjało namnażaniu tkanki embriogenicznej, niezależnie od rodzaju zastosowanej auksyny u tego gatunku świerka. Istotny statystycznie wynik stwierdzono dla tkanki namnażanej w obecności NAA. Najwyższą intensywność wzrostu obserwowano po zastosowaniu w pożywkach namnażających NAA/BA, przy czym dla tkanek *P. abies* wzrost ten był zbliżony do wzrostu tkanek namnażanych w obecności Pikloramu/BA, od którego nie różnił się statystycznie istotnie. Dokonano jednocześnie analizy obecności trzech rodzajów struktur embriogenicznych w namnażanych tkankach w celu stwierdzenia, czy zastosowane auksyny będą warunkowały liczbę i wielkość tychże struktur w namnażanych tkankach, a w konsekwencji ich zdolność do wytwarzania somatycznych zarodków. Jak dotąd w literaturze nie było dostępnych danych na ten temat. Struktury proembriogeniczne (PEMs – *ang. proembryogenic structures*) to somatyczne zarodki we wczesnych stadiach rozwojowych (proembryos – prazarodki). W zależności od stopnia zaawansowania ich budowy wyróżnia się struktury typu PEM I, PEM II i PEM III, przy czym najbardziej pożądana jest obecność struktur typu PEM III, bowiem rozwój prazarodka w bardziej zaawansowane stadia jest możliwy tylko w przypadku tychże struktur. Prazarodek składa się z komórek merystematycznych regionu embriogenicznego oraz z silnie zwakuolizowanych komórek wieszadełka. Komórki regionu embriogenicznego w dalszym etapie rozwoju dają początek zarodkowi somatycznemu (Filonova i in. 2000). W naszych wcześniejszych badaniach obserwowano obecność wszystkich typów wyżej wymienionych struktur w tkankach embriogenicznych *P. abies* i *P. omorika* (**Załącznik 4, II pkt 4.A9**). W celu uwidocznienia struktur proembriogenicznych w tkankach wykonano preparaty przyżyciowe, które barwiono 2% acetokarminem i oceniano uzyskane obrazy pod mikroskopem świetlnym (Axioskop 20, Carl Zeiss, New York, NY, USA). Przeprowadzona ostatnia analiza wykazała, że u obu gatunków świerka średnia liczba prazarodków obecnych w tkankach embriogenicznych zależała istotnie od zastosowanej auksyny. Znacząco wyższą liczbę prazarodków stwierdzono w obecności NAA/BA w porównaniu z Pikloramem/BA i 2,4-D/BA. Także rodzaj zastosowanej auksyny wpływał znacząco na średni

rozmiar regionu embriogenego prazarodka w jego poszczególnych stadiach rozwojowych. Oznacza to, że na tym etapie somatycznej embriogenezy **manipulowanie składem pożywki poprzez zastosowanie określonych auksyn mogłoby potencjalnie poprawić liczbę i jakość rozwijających się zarodków z poszczególnych linii embriogenych.**

Wysoka efektywność dwóch pierwszych etapów somatycznej embriogenezy determinuje kolejny etap tego procesu, czyli dojrzewanie somatycznych zarodków. **Stąd, kolejnym założeniem moich badań była odpowiedź na pytanie, czy rodzaj zastosowanych przez nas auksyn wraz z BA (4,5 μ M) podczas indukcji i namnażania somatycznych zarodków będzie miał odzwierciedlenie w procesie dojrzewania, kielkowania i konwersji zarodków w somatyczne siewki. Tego rodzaju analizy były prowadzone rzadko i liczba dostępnych informacji w tym zakresie jest ograniczona.** Wydajność na etapie dojrzewania zarodków jest kluczowa dla efektywności mikrorozmnażania metodą somatycznej embriogenezy, ponieważ tutaj efektem końcowym powinna być maksymalna liczba prawidłowo rozwiniętych zarodków, które będą zdolne do przejścia w dojrzałe, liścieniowe stadium rozwojowe. Dostępność tylko wysokiej jakości somatycznych zarodków umożliwia uzyskanie ostatecznie somatycznych siewek, które można będzie aklimatyzować do warunków zewnętrznych. Porównując wpływ 2,4-D, NAA lub Pikloramu, auksyn które zostały zastosowane podczas namnażania tkanek embriogenych na późniejszy wzrost somatycznych zarodków, nie obserwowano znaczącego ich wpływu na ten proces, choć w przypadku świerka serbskiego stwierdzono tendencję do obniżenia produkcji zarodków po uprzednim potraktowaniu tkanek NAA lub Pikloramem [2]. Wcześniejsze nieliczne doniesienia literaturowe wskazywały, że stężenie regulatorów wzrostu, które stosowano w pożywkach przed dojrzewaniem zarodków, warunkowało poziom produkcji zarodków u gatunków drzew iglastych z traktowanych tkanek embriogenych (Klimaszewska i in. 2001, Leljak-Levanić i in. 2009). Zahamowanie rozwoju zarodków może wynikać z nadmiernego nagromadzenia auksyn i cytokinin w tkankach embriogenych, co zapobiega procesowi różnicowania i wzrostu zarodków (Klimaszewska i in. 2001). W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano po raz pierwszy [2], że zastosowane egzogenne auksyny znacząco wpływały na rozwój hipokotyla i korzonka zarodkowego u obu gatunków świerka podczas kielkowania somatycznych zarodków. Najbardziej zsynchronizowany rozwój korzenia i hipokotyla uzyskano dla *P. abies* po uprzednim traktowaniu tkanek NAA/BA, podczas gdy u *P. omorika* synchronizacja rozwoju obu tych organów była najniższa w tym wariantcie traktowania tkanek.

Wyniki omówionych powyżej badań, prowadzonych na różnych poziomach organizacji organizmu, zostały podsumowane w dwóch pracach eksperymentalnych [1]

i [2] oraz zaprezentowane podczas dwóch konferencji krajowych (Załącznik 4, II pkt 7.27 i 28).

2. Wykazanie zmiennej aktywności peroksydazy gwajakolowej podczas indukcji i namnażania tkanek embriogennych obu gatunków świerka w obecności określonych regulatorów wzrostu [H2].

Peroksydaza gwajakolowa (EC 1.11.1.7) należy do oksydoreduktaz, które katalizują utlenianie związków organicznych w obecności nadtlenu wodoru (H_2O_2). Uczestniczą one w systemie antyoksydacyjnym, który chroni komórki przed nadmierną akumulacją H_2O_2 i atakami patogenów (Verma i in. 2012), jak i w rozwoju komórek roślinnych (Brownleader i in. 2000), takich jak np. somatycznych zarodków gatunków drzew iglastych (Kormuták i in. 2003). Analizy aktywności peroksydazy gwajakolowej nie były uwzględniane, jak dotąd, w badaniach nad biochemicznymi uwarunkowaniami somatycznej embriogenezy u gatunków drzew iglastych. Na podstawie analizy spektrofotometrycznej wykazano, że aktywność peroksydazy gwajakolowej zmieniała się w fazie indukcji kultur embriogennych obu gatunków świerka [1]. Najniższą aktywność obserwowano w eksplantatach (dojrzałych zygotycznych zarodkach), znacząco wyższą w 8-tygodniowych kalusach i najniższą w zaindukowanych tkankach embriogennych. Kombinacje i stężenia regulatorów wzrostu nie miały wpływu na aktywność peroksydazy gwajakolowej zarówno podczas indukcji, jak i namnażania tkanki embriogennej, chociaż podczas indukcji poziom jej aktywności wzrastał w kalusach w obecności 2,4-D. Uzyskane wyniki wskazują, że peroksydaza ta mogłaby być uznana za biochemiczny marker somatycznej embriogenezy u obu badanych gatunków świerka. W przypadku tkanek świerka serbskiego takiej zależności nie stwierdzono.

Wyniki omówionych powyżej badań zostały podsumowane w dwóch pracach eksperymentalnych [1] i [2] oraz zaprezentowane podczas trzech konferencji krajowych (Załącznik 4, II pkt 7.24, 27-28).

3. Określenie znaczenia warunków hodowli, zastosowanych podczas dojrzewania somatycznych zarodków obu gatunków świerka, w ich rozwoju i zdolności do kiełkowania [H3].

U gatunków drzew iglastych wzrost i dalszy rozwój somatycznych zarodków jest stymulowany przez obecność kwasu abscysynowego (ABA) w pożywce do dojrzewania

somatycznych zarodków oraz przez odpowiednie ciśnienie osmotyczne pożywki, tzw. osmoticum (Teyssier i in. 2011, Texteira da Silva i Malabadi 2012). Jak dotąd protokoły mikrorozmnażania poprzez somatyczną embriogenezę większości *Picea* spp. nie są jednak na tyle satysfakcjonujące, aby mogły być stosowane na skalę komercyjną dla większej liczby genotypów, dlatego nadal istnieje potrzeba badań nad wpływem stosowanych procedur na wydajność produkcji zarodków przy zastosowaniu tej metody mikrorozmnażania. W związku z powyższym przeprowadzono eksperymenty, które miały na celu odpowiedzieć na pytanie, w jaki sposób ABA lub dostępność wody w pożywce, warunkowana określonym stężeniem sacharozy bądź Phytagelu, będą wpływały na proces dojrzewania i kiełkowania somatycznych zarodków oraz na schemat gromadzenia skrobi w rozwijających się zarodkach świerka serbskiego i pospolitego. W badaniach tych świerk pospolity został potraktowany jako gatunek modelowy. Wyniki badań zostały opublikowane w pracy nr [3]. Tkanki embriogenne obu gatunków świerka były traktowane różnymi stężeniami ABA (10, 20, 40 i 80 μM), sacharozy (17, 34 i 68 g/l) oraz Phytagelu (4, 6 i 8 g/l). Wykazano, że ABA i stężenie osmotyczne pożywki miały znaczący wpływ na produkcję i proces dojrzewania somatycznych zarodków, również i w prezentowanych badaniach. Dostarczenie do pożywek ABA (10 g/l) bądź też sacharozy (17 g/l) w niższym stężeniu skutkowało przedwczesnym kiełkowaniem somatycznych zarodków. **Uzyskane wyniki potwierdziły, że stosowanie wyższych stężeń tych składników wpływało korzystnie na proces dojrzewania somatycznych zarodków obu gatunków świerka.** Co więcej, zastosowanie wyższego stężenia sacharozy w pożywce do dojrzewania zarodków (68 g/l), przyczyniło się do poprawienia wzrostu korzonka zarodkowego podczas kiełkowania zarodka. Obserwowaliśmy także stymulujący wpływ wyższych stężeń Phytagelu na wzrost hipokotyli i korzonka zarodkowego siewek świerka serbskiego. **Po raz pierwszy wykazano wpływ ABA i dostępu wody w pożywce na schemat akumulacji jednego z materiałów zapasowych – skrobi, podczas rozwoju somatycznych zarodków świerka pospolitego i serbskiego.** Skrobia stanowi ważny rodzaj materiałów zapasowych gromadzonych w formie charakterystycznych gran w somatycznych zarodkach. Jest ona wykorzystywana w szeregu przemian metabolicznych jako źródło energii. Nasze wcześniejsze obserwacje w oparciu o transmisyjny mikroskop elektronowy wykazały obecność gran skrobi w somatycznych zarodkach obu gatunków świerka (**Załącznik 4, II pkt 4.A9**). Przeprowadzone analizy zawartości skrobi zgodnie z metodyką Huber i Israel (1982) wykazały, że wszystkie trzy testowane czynniki miały znaczący wpływ na schemat akumulacji skrobi podczas dojrzewania somatycznych zarodków *P. abies* i *P. omorika*. Przykładowo 5-tygodniowe zarodki *P. omorika*, dojrzewające w obecności wyższych stężeń ABA (40 lub

80 μM), zawierały trzykrotnie wyższą zawartość skrobi aniżeli zarodki potraktowane niższymi stężeniami tego składnika pożywek [3]. Zaobserwowano także wyraźną zależność pomiędzy intensywnością gromadzenia skrobi a wyższymi stężeniami sacharozy w pożywkach; bez względu na gatunek świerka i stadium rozwojowe zarodków im wyższe było stężenie sacharozy w pożywce, tym wyższy poziom skrobi w somatycznych zarodkach. Niemniej jednak wykazano, że somatyczne zarodki świerka pospolitego akumulowały znacznie więcej skrobi niż zarodki świerka serbskiego podczas dojrzewania na pożywce o tym samym stężeniu sacharozy. Istnieje duże prawdopodobieństwo, że zarodki tego drugiego gatunku świerka wykazują mniejsze zapotrzebowanie na ten rodzaj materiałów zapasowych w swoim dalszym rozwoju. Chociaż istniały już doniesienia, że balansowanie stężeniem Phytagelu w pożywce wpływa na dojrzewanie somatycznych zarodków niektórych gatunków drzew iglastych (Lelu-Walter i Pâques 2009, Teyssier i in. 2011), to brakowało w literaturze informacji, czy ten składnik pożywki oddziałuje na akumulację skrobi w zarodkach somatycznych tej grupy roślin. **Przeprowadzone badania dowodzą, że w przypadku *P. omorika* gromadzenie skrobi jest intensywniejsze przy zastosowaniu mniejszych stężeń Phytagelu (4 lub 6 g/l), natomiast większa dawka (8 g/l) skutkuje zahamowaniem tego procesu.** Uzyskany wynik sugeruje, że wyższe ciśnienie osmotyczne pożywki może silnie ograniczać transport sacharozy z pożywki do zarodków, co w konsekwencji prowadzi do obniżonej akumulacji zapasów skrobi. **Balansując wyżej wymienionymi składnikami pożywki, można w pewnym stopniu wpływać na wzrost i rozwój somatycznych zarodków obu badanych gatunków świerka, a w konsekwencji na poprawę ich jakości.** Nadal jednak nie bez znaczenia pozostaje genotyp tkanki embriogennej, którą poddaje się działaniu tych czynników w celu pobudzenia jej do wytwarzania zarodków.

Mikrorozmnażanie drzew leśnych metodą somatycznej embriogenezy przy wypracowaniu uniwersalnych protokołów mnożenia pozwoli w niedalekiej przyszłości na wdrożenie tej metody do hodowli drzew (Lelu-Walter i in. 2013, Egertsdotter 2019). **Dzięki temu możliwe będzie uzyskanie nieograniczonej liczby osobników z pojedynczego, wyselekcjonowanego klonu, w czasie krótszym niż przy stosowaniu tradycyjnych metod hodowlanych, opartych na mnożeniu wegetatywnym.** Metoda ta umożliwi także mnożenie w przypadku, gdy mamy dostęp do niewielkiej ilości materiału matecznego. Jest to szczególnie ważne dla tych gatunków drzew, których nasiona trudno się przechowują (dąb), nieregularnie owocują (buk) lub są zagrożone na skutek zachodzących zmian klimatycznych (świerki, sosna) (Szczygieł 2006, Dyderski i in. 2018).

Wyniki omówionych powyżej badań zostały podsumowane w jednej pracy eksperymentalnej [3].

*4. Określenie, czy stopniowe odwodnienie tkanki embriogenicznej *Picea spp.* pozwoli na efektywne przechowanie tkanek w ciekłym azocie oraz ocena stabilności genetycznej tkanki świerka pospolitego po jej kriokonserwacji opracowaną metodą [H4].*

Somatyczna embriogeneza w powiązaniu z techniką kriokonserwacji stanowi ważne narzędzie w hodowli roślin. W standardowych programach hodowlanych potrzeba bardzo długiego czasu, aby dokonać identyfikacji genotypu w testach polowych. Z drugiej strony, drzewa osiągają w tym czasie wiek, który uniemożliwia ich rozmnażanie przy zastosowaniu metod wegetatywnych. W konsekwencji dochodzi do utraty cennych genotypów, które mogą stanowić drzewa rodzicielskie dopiero w kolejnej generacji. Pomocnym narzędziem w tym momencie staje się kriokonserwacja tkanek embriogenicznych, uzyskanych dla danego genotypu w wyniku somatycznej embriogenezy. Przechowywane w ten sposób tkanki mogą być wykorzystywane dla potrzeb programów genetycznych, po ich rozmrożeniu i namnożeniu w kulturze *in vitro*. **Dzięki możliwości kriokonserwacji tkanki embriogeniczne mogą być wykorzystane do ochrony zasobów genowych, ponieważ nie tracą one juwenilności i stabilności genetycznej materiału genetycznego** (Szczygieł 2006). Dlatego też zagadnieniem, któremu poświęcone są moje dwie kolejne prace [4] i [5] jest kriokonserwacja tkanek embriogenicznych świerka serbskiego i pospolitego. W pracach prezentuję wyniki badań nad możliwością krioprzechowywania tkanek obu gatunków świerka, z wykorzystaniem opracowanej przeze mnie innowacyjnej metody stopniowego odwadniania materiału roślinnego, przed umieszczeniem go w ciekłym azocie.

Tkanki embriogeniczne to dogodny materiał do przechowywania w ciekłym azocie, stąd są one często wykorzystywane do zachowania roślinnych zasobów genowych w bankach klonów elitarnych linii, które są cenne pod względem ekonomicznym (Cyr i in. 1999). Metoda stopniowej dehydratacji (*ang. pre-growth dehydration method*) tkanek embriogenicznych opiera się na zjawisku witrifikacji. Polega ona na prekultury (wstępnym traktowaniu) tkanek pożywkami zawierającymi sacharozę w coraz wyższych stężeniach (0,25 M sacharozę przez 24 h, 0,5 M przez 24 h, 0,75 M przez 2 dni, 1,0 M przez 3 dni) przez 7 dni, w temperaturze 25°C i w ciemności. Zabieg ten prowadzi do osmotycznej dehydratacji materiału. Po upływie tego czasu fragmenty tkanki (*ang. clumps*) były poddane dalszemu podsuszaniu – w sterylnym powietrzu, nad żelem krzemionkowym, aż do utraty przez nie wody do zawartości ok. 20%.

Po tych zabiegach tkanki zamrażano w ciekłym azocie na 24 h. Następnie tkanki były rozmrażane w temp. 42°C i stopniowo uwadnianie na pożywkach zawierających sacharozę w malejących stężeniach i ostatecznie przenoszone na pożywkę do namnażania tkanki [4]. W wyniku przeprowadzonej procedury uzyskano niemal 100% przeżywalność tkanki embriogenicznej *P. omorika*, która z sukcesem namnażała się w kulturze *in vitro* po kriokonserwacji. W pracy wykazano ponadto, że przechowywanie tkanki w bezpośrednim kontakcie z ciekłym azotem może być niekorzystne ze względu na liczne zakażenia bakteryjne, które pojawiały się w obrębie rozmrożonych tkanek [4]. Z kolei w przypadku świerka pospolitego powyższa procedura została nieco zmodyfikowana ze względu na niską przeżywalność tkanki po zabiegu kriokonserwacji. Pożywki zawierające sacharozę o określonych stężeniach zostały uzupełnione dodatkowo 10 μ M ABA, co w efekcie poprawiło wydajność metody. Uzyskana przeżywalność tkanki embriogenicznej wynosiła wówczas 54,4%, podczas gdy zastosowanie samej sacharozy dało tylko 20% przeżywalność tkanki [5]. Jednocześnie dodatek ABA do pożywek na etapie prekultury wpłynął pozytywnie na zdolność tkanek embriogenicznych do formowania większej liczby zarodków w stadium dojrzłym (liścieniowym).

Główną zaletą opracowanej przez nas metody jest fakt, że nie wymaga ona stosowania toksycznego dimetylosulfotlenku (DMSO), który jest powszechnie stosowany w innych technikach kriokonserwacji. Według niektórych doniesień DMSO może przyczyniać się do pewnych niepożądanych zmian, zarówno na poziomie biochemicznym, genetycznym, jak i epigenetycznym (Finkle i in. 1985, Aronen i in. 1999). **Dlatego opracowana przez nas procedura może być stosowana jako alternatywa w stosunku do pozostałych metod kriokonserwacji.**

Uzyskane przez nas pozytywne wyniki kriokonserwacji skłoniły mnie do przeprowadzenia analiz stabilności genetycznej przechowywanej tkanki embriogenicznej świerka pospolitego [5]. W tym celu badano tkankę embriogeniczną, niepoddaną procedurom kriokonserwacji (kontrola), tkankę kriokonserwowaną oraz somatyczne zarodki otrzymane z kriokonserwowanej tkanki. Przeprowadzono analizę mikrosatelitarną (SSR) jądrowego DNA. W sumie analizie zostało poddanych pięć wybranych *loci* mikrosatelitarnych: SpAGC1, SpAGC2, SpAGG3, SpAC1H8 i SpAC1F7 (Pfeiffer i in. 1997). Struktura sekwencji SSR, które należą do najbardziej zmiennych sekwencji w genomach, czyni je szczególnie podatnymi na mutacje genetyczne (Glaubitz i Moran 2000). Obecnie analiza sekwencji SSR jest standardową techniką badania stabilności/zmienności genetycznej materiału roślinnego, uzyskanego w wyniku rozmnażania wegetatywnego (Burg i in. 2007, Helmersson i in. 2008),

jak i przechowywanego w ciekłym azocie (Fernandes i in. 2008). Według niektórych doniesień sekwencje SSR ulegają częstym mutacjom w drzewach, które rozmnażano *in vitro* (Burg i in. 1999, Rahman i Rajola 2001). Stąd istnieje potrzeba monitorowania zmienności genetycznej w sekwencjach SSR DNA z materiału roślinnego, który poddano mikrorozmnażaniu i kriokonserwacji. Otrzymane przeze mnie wyniki nie wykazały jakichkolwiek zmian pomiędzy genomowym DNA, pochodzącym z nekriokonserwowanej i z kriokonserwowanej tkanki i z somatycznych zarodków, uzyskanych z tej drugiej tkanki. Jednakże ze względu na małą liczbę analizowanych SSR *loci* nie możemy do końca stwierdzić, czy tkanka embriogenna była genetycznie stabilna czy też nie.

Wyniki omówionych powyżej badań zostały podsumowane w dwóch pracach eksperymentalnych [4] i [5] oraz zaprezentowane podczas 8 konferencji krajowych i 9 międzynarodowych (Załącznik 4, II pkt 7.7-12, 15, 20, 30-37, 41). Plakat prezentujący te wyniki został wyróżniony na XII Ogólnopolskiej Konferencji Kultur *In Vitro* i Biotechnologii Roślin w Poznaniu w 2009 roku (Załącznik 4, II pkt 7.8).

Podsumowanie

Ubiegając się o stopień doktora habilitowanego nauk leśnych (na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.), jako swoje najważniejsze osiągnięcie w działalności naukowej uważam cykl pięciu oryginalnych prac twórczych, których problematykę przedstawiłam syntetycznie powyżej. W moich badaniach wykazałam, że:

1. Balansowanie stosunkiem auksyny do cytokininy może przyczynić się do poprawienia intensywności namnażania tkanek określonych linii embriogennych świerka serbskiego.
2. Świerk serbski i pospolity różnią się wrażliwością na poszczególne rodzaje auksyn w różnych etapach somatycznej embriogenezy. U świerka serbskiego zastosowanie Picloramu i NAA, we wczesnych etapach somatycznej embriogenezy, przyczyniło się do obniżenia produkcji somatycznych zarodków. Natomiast podczas kiełkowania somatyczne zarodki świerka pospolitego, uzyskane z tkanek poddanych działaniu NAA na etapie indukcji i namnażania, cechowały się bardziej zsynchronizowanym rozwojem korzenia i hipokotyła.

3. Peroksydaza gwajakolowa charakteryzowała się zmienną aktywnością w pierwszych etapach somatycznej embriogenezy, może więc przypuszczalnie stanowić biochemiczny marker tego procesu u obu badanych gatunków świerka.
4. Reakcja tkanek embriogennych na kwas abscysynowy i ciśnienie osmotyczne pożywki była silnie uzależniona od gatunku świerka. Stężenie trzech testowanych składników pożywek wpływało na schemat akumulacji skrobi w rozwijających się zarodkach *P. omorika* i *P. abies*.
5. Istnieje możliwość krioprzechowywania kultur embriogennych obu gatunków świerka po zastosowaniu stopniowego odwodnienia tkanek, bez potrzeby stosowania toksycznego dimetylosulfotlenku.
6. Dodanie kwasu abscysynowego do pożywek, stosowanych podczas prekultury tkanki embriogennej świerka pospolitego, skutkowało poprawą wzrostu tkanki po kriokonserwacji oraz zwiększeniem jej zdolności do regeneracji zarodków w stadium dojrzałym.
7. Materiał roślinny uzyskany po rozmrożeniu tkanki embriogennej świerka pospolitego z ciekłego azotu zachował niezmienny charakter genetyczny w badanych pięciu wybranych jądrowych *loci* mikrosatelitarnych.
8. Wyniki przeprowadzonych badań nad optymalizacją metody somatycznej embriogenezy mogą znaleźć zastosowanie praktyczne w leśnictwie klonalnym, ponieważ pozwolą na rozmnażanie wegetatywne elitarnych i unikatowych genotypów drzew obu gatunków świerka.
9. Opracowana procedura kriokonserwacji tkanek embriogennych umożliwi długoterminowe zachowanie cennych zasobów genowych badanych gatunków drzew leśnych *ex situ*.

Literatura

- Aronen T.S., Krajnakova J., Häggman H.M., Ryyänen L.A. 1999. Genetic fidelity of cryopreserved embryogenic cultures of open-pollinated *Abies cephalonica*. *Plant Sci.* 142: 163-172.
- Ballian D., Longauer R., Mikić T., Paule L., Kajba D., Gömöry D. 2006. Genetic structure of rare European conifer, Serbian spruce (*Picea omorika* (Pančić.) Purk.). *Plant Syst. Evol.* 260: 53-63.
- Bonga J.M. 2015. A comparative evaluation of the application of somatic embryogenesis, rooting of cuttings, and organogenesis of conifers. *Can. J. For. Res.* 4: 379-383.
- Brownleader M.D., Hopkins J., Mobasheri A., Dey P.M., Jackson P., Trevan M. 2000. Role of extension peroxidase in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedling growth. *Planta* 210: 668-676.
- Budimir S., Vujičić R. 1992. Benzyladenine induction of buds and somatic embryogenesis in *Picea omorika* (Pančić) Purk. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 31: 89-94.
- Burg K., Hristoforoglu K., Fluch S., Hohl A., Burg A., Schmidt J. 1999. Analysis of the fidelity of DNA replication in embryogenic cultures of Norway spruce. In: Espinel S., Ritter E. (Eds). *Proceedings of application of biotechnology to forest genetics.* Biofor. 99. Vitoria-Gasteiz, Spain, pp. 231-235.
- Burg K., Helmersson A., Bozhkov P., von Arnold S. 2007. Developmental and genetic variation in nuclear microsatellite stability during somatic embryogenesis in pine. *J. Exp. Bot.* 58: 687-698.
- Carlsson J., Egertsdotter U., Ganeteg U., Svennerstam H. 2019. Nitrogen utilization during germination of somatic embryos of Norway spruce: revealing the importance of supplied glutamine for nitrogen metabolism. *Trees – Struct. Funct.* 33: 383-394.
- Chalupa V. 1985. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from cultured immature and mature embryos of *Picea abies* (L.) Karst. *Comm. Inst. Forest.* 14: 57-63.
- Cyr D.R. 1999. Cryopreservation of embryogenic cultures of conifers and its application to clonal forestry. In: Jain. S.M., Gupta P.K., Newton R., J. (Eds). *Somatic embryogenesis in Woody Plants.* Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 4, pp. 239-261.
- Cyr D.R., Attree S.M., El-Kassaby A., Ellis D., Polonenko D.R., Sutton B.C.S. 2001. Application of somatic embryogenesis to tree improvement in conifers. In: Morohoshi N., Komamine A. (Eds). *Molecular Breeding of Woody Plants. Proceedings of the International Wood Biotechnology Symposium.* Elsevier Science, Narita, Chiba, Japonia, pp. 305-312.
- Dahrendorf, J., Clapham, D., Egertsdotter, U., 2018. Analysis of nitrogen utilization capability during the proliferation and maturation phases of Norway spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst.) somatic embryogenesis. *Forests* 9(6).288. <https://doi.org/10.3390/f9060288>
- Dell'Oro M., Mataruga M., Sass-Klaassen U., Fonti P. 2020. Climate change threatens on endangered relict Serbian spruce. *Dendrochronologia* 59, <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2019.125651>

Dyderski M.K., Paż S., Frelich L.E., Jagodziński A.M. 2018. How Much Does Climate Change Threaten European Forest Tree Species Distributions? *Glob. Chang. Biol.* 24: 1150-1163. <https://doi.org/10.1111/gcb.13925>.

Egertsdotter U., Ahmad I., Clapham D. 2019. Automation and scale up of somatic embryogenesis for commercial plant production, with emphasis on conifers. *Front. Plant Sci.* 10: 109. doi: 10.3389/fpls.2019.00109.

Fernandes P., Rodriguez E., Pinto G., Roldán-Ruiz I., De Loose M., Santos C. 2008. Cryopreservation of *Quercus suber* somatic embryos by encapsulation-dehydration and evaluation of genetic stability. *Tree Physiol* 28: 1841-1850.

Filonova L. H., Bozhkov P.V., von Arnold S. 2000. Developmental pathway of somatic embryogenesis in *Picea abies* as revealed by time-lapse tracking. *J. Exp. Bot.* 51: 249-264.

Finkle B.J., Zavala M.E., Ulrich I.M., 1985. Cryoprotective compounds in the viable freezing of plant tissues. In: Kartha K.K. (Ed.) *Cryopreservation of plant cells and organs*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 75-113.

Glaubitz J.C., Moran G.F. 2000. Genetic tools: the use of biochemical and molecular markers. In: Young A., Boshier D., Boyle T. (Eds). *Forest conservation genetics: principles and practice*. CSIRO Publishing, Collingwood, pp. 39-59.

Grossnickle S.C., Sutton B.C.S. 1999. Applications of biotechnology for forest regeneration. *New Forests* 17: 213-226.

Grossnickle S.C., Major J.E. 1994. Interior spruce seedlings compared to emblings produced from somatic embryogenesis. II. Stock quality assessment prior to field planting. *Can. J. For. Res.* 24: 1385-1396.

Hakman I., Fowke L.C., von Arnold S., Eriksson T. 1985. The development of somatic embryos in tissue cultures initiated from immature embryos of *Picea abies* (Norway spruce). *Plant Sci.* 38: 53-59.

Helmersson A., Jansson G., Bozhkov P.V., von Arnold S. 2008. Genetic variation in microsatellite stability of somatic embryo plants of *Picea abies*: a case study using six unrelated full-sib families. *Scand. J. Forest Res.* 23: 2-11.

Högberg K., Varis S. 2016. Vegetative Propagation of Norway Spruce: Experiences and Present Situation in Sweden and Finland. In *Vegetative Propagation of Forest Trees*; Park, Y.S., Bonga, J.M., Moon, H.-K. (Eds.). National Institute of Forest Science (Nifos), Seoul, Korea, pp. 528-550.

Huber S., Israel D. 1982. Biochemical basis for partitioning of photosynthetically fixed carbon between starch and sucrose in soybean (*Glycine max* Merr.) leaves. *Plant Physiol.* 69: 691-696.

Hudec L., Konrádová H., Hašková A., Lipavská H. 2016. Norway spruce embryogenesis: changes in carbohydrate profile, structural development and response to polyethylene glycol. *Tree Physiol.* 36: 548-561.

Ivetić V., Aleksić J. M. 2019. Serbian Spruce and Climate Change: Possible Outcomes and Conservation Strategy. In: Šijačić-Nikolić M., Milovanović J., Nonić M. (Eds). *Forests of Southeast Europe Under a Changing Climate: Conservation of Genetic Resources*. *Advances in Global Change Research*.

Springer International Publishing, Cham, Switzerland, pp. 353-371. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95267-3_30.

Jiménez V.M., Thomas C. 2006. Participation of plant hormones in determination and progression of somatic embryogenesis. In: Mujib A., Šamaj J. (Eds.). Plant Cell Monographs. Somatic Embryogenesis 2, Springer, Berlin, pp. 103-118.

Klimaszewska K., Park Y.S., Overton C., Maceacheron I., Bonga J.M. 2001. Optimized somatic embryogenesis in *Pinus strobus* L. In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant, 37: 392-399.

Kolevska-Pletikapić B., Krsnik-Rasol M., Lorković Z., Besendorfer V., Tramisak T., Jelaska S., 1995. Somatic embryogenesis in *Picea omorika* (Panc.) purk. Acta Pharm. 45: 267-271.

Kormuták A., Salaj T., Matúšová R., Vooková B. 2003. Biochemistry of zygotic and somatic embryogenesis in silver fir (*Abies alba* Mill.). Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 45: 59-62.

Leljak-Levanić D., Mihaljević S., Jelaska S. 2009. Variations in DNA methylation in *Picea omorika* (Pančić). Purk. Embryogenic tissue and the ability for embryo maturation. Propag. Ornam. Plants 9: 3-9.

Lelu-Walter M.A., Pâques L.E. 2009. Simplified and improved somatic embryogenesis of hybrid larches (*Larix x eurolepis* and *Larix x marschlinsii*). Perspectives for breeding. Ann. For. Sci. 66: 104.

Lelu-Walter M.-A., Thompson D., Harvengt L., Sanchez L., Toribio M., Pâques L. E. 2013. Somatic Embryogenesis in Forestry with a Focus on Europe: State-of-the-Art, Benefits, Challenges and Future Direction. Tree Genet. Genomes 9 (4): 883-99. <https://doi.org/10.1007/s11295-013-0620-1>.

Montwé D., Spiecker H., Hamann A. 2014. An Experimentally Controlled Extreme Drought in a Norway Spruce Forest Reveals Fast Hydraulic Response and Subsequent Recovery of Growth Rates. Trees Struct. Funct. 28: 891-900.

Park Y.S. 2001. Implementation of conifer somatic embryogenesis in clonal forestry: technical requirements and deployment considerations. Ann. For. Sci. 59: 651-656.

Pfeiffer A., Olivieri A.M., Morgante M. 1997. Identification and characterization of microsatellites in Norway spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst). Genome 40: 411-419.

Rahman M.H., Rajola O.P. 2001. Microsatellite DNA somaclonal variation in micropropagated trembling aspen (*Populus tremuloides*). Plant Cell Rep. 20: 531-536.

Rosvall O. 2019. Using Norway Spruce Clones in Swedish Forestry: General Overview and Concepts. Scand. J. For. Res. 34: 336-341. <https://doi.org/10.1080/02827581.2019.1614659>.

Salonen, F., Varis, S., Aronen, T.S., 2017. From Petri dishes to bioreactors—first experiences on optimization of Norway spruce SE-process for bioreactors. In: Park Y.S., Bonga J.M. (Eds). Proceedings of the 4th international conference of the IUFRO unit 2.09.02. on Development and application of vegetative propagation technologies in plantation forestry to cope with a changing climate and environment, La Plata, Argentina, pp. 293-297.

Salopek B., Milaković T.T., Mihaljević S., Jelaska S. 1997. Storage product accumulation during the maturation of *Picea omorika* (Pančić.) Purk. somatic embryos. *Period. Biol.* 99: 117-124.

Schenk R.U., Hildebrandt A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* 50: 199-204.

Sierota Z., Grodzki W., Szczepkowski A. 2019. Abiotic and Biotic Disturbances Affecting Forest Health in Poland over the Past 30 Years: Impacts of Climate and Forest Management. *Forests* 10, 75.

Subramanian N., Bergh J., Johansson U., Nilsson U., Sallnäs O. 2016. Adaptation of Forest Management Regimes in Southern Sweden to Increased Risks Associated with Climate Change. *Forests*, 7, 8.

Skrøppa T. EUFORGEN. 2003. Technical Guidelines for Genetic Conservation and Use for Norway Spruce (*Picea abies*); International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 6 pages.

Teixeira da Silva J.A., Malabadi R.B. 2012. Factors affecting somatic embryogenesis in conifers. *J. For. Res.* 23: 503-515.

Szczygieł K. 2005. Somatyczna embriogeneza – alternatywny sposób uzyskania wyselekcjonowanego materiału sadzeniowego gatunków drzew iglastych”. *Leśne Prace Badawcze* 3: 71-92.

Szczygieł K. 2006. Możliwości wegetatywnego rozmnażania drzew leśnych *in vitro*. W: Elementy genetyki i hodowli selekcyjnej drzew leśnych. Sabor J. (Ed.). Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa, pp. 399-406.

Teyssier C., Grondin C., Bonhomme L., Lomenech A.M., Vallance M., Morabito D., Label P., Lelu-Walter A.M. 2011. Increased gelling agent concentration promotes somatic embryo maturation in hybrid larch (*Larix x eurolepsis*): a 2-DE proteomic analysis. *Physiol. Plant* 141: 156-165.

Tramišak-Milaković T., Mihaljević S., Jelaska, S. 1999. Effects of abscisic acid and carbohydrates on the maturation of *Picea omorika* (Pančić.) Purk. somatic embryos. *Acta Bot. Croat.* 58: 87-97.

Varis S., Tikkinen M., Välimäki S., Aronen T. 2021. Light spectra during somatic embryogenesis of Norway spruce—impact on growth, embryo productivity, and embling survival. *Forests* 12: 301. <https://doi.org/10.3390/f12030301>

Verma A., Malik C. P., Gupta V. K. 2012. *In vitro* effects of brassinosteroids on the growth and antioxidant enzyme activities in groundnut. *ISRN Agron.*, 356485. doi: 10.5402/2012/356485

g) Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

W 1993 roku rozpoczęłam studia magisterskie na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Pracę magisterską napisałam w 1998 roku pod kierunkiem prof. dr hab. Janiny Borysiak w Zakładzie Ekologii Roślin i Ochrony Środowiska UAM. Celem pracy było rozpoznanie i udokumentowanie zbiorowisk roślinnych, poznanie ich wewnętrznego zróżnicowania na tle warunków siedliskowych oraz analiza flory

wyróżnionych fitocenonów w obrębie fragmentu lewobrzeżnej doliny Warty przy północnym przedmieściu Puszczykowa. Recenzentem pracy była prof. dr hab. Anna Maria Bujakiewicz. Pracę obroniłam z wyróżnieniem.

Po ukończeniu studiów w 1998 roku zostałam zatrudniona na stanowisku młodszego dokumentalisty w Pracowni Mnożenia Wegetatywnego w Zakładzie Dendrologii Stosowanej Instytutu Dendrologii Polskiej Akademii Nauk, którego kierownikiem była pani dr hab. Krystyna Bojarczuk. W Pracowni prowadzone były badania nad wpływem stresu, spowodowanego skażeniem podłoża związkami chemicznymi, na rozwój klonów brzozy brodawkowatej i topoli szarej. W pierwszych latach pracy zdobyłam doświadczenie w badaniach nad mikrorozmnażaniem drzew, będąc wykonawcą w projekcie badawczym (nr 5P06M00512), kierowanym przez panią dr hab. K. Bojarczuk w latach 1997-1999 (**Załącznik 4, II pkt 9 IA.2**). W celu dalszego pogłębienia wiedzy nad mikrorozmnażaniem drzew odbyłam szkolenia w kilku placówkach naukowych w Polsce: w Zakładzie Botaniki Ogólnej na UAM w Poznaniu, w Laboratorium Kultur Tkankowych w Instytucie Sadownictwa i Kwaciarnictwa w Skierniewicach, w Katedrze Roślin Ozdobnych SGGW czy w Zakładzie Morfogenezy Roślin UW w Warszawie. Wówczas pani dr hab. Bojarczuk zainspirowała mnie do rozpoczęcia własnych badań nad mikrorozmnażaniem wybranych gatunków świerka ozdobnego metodą somatycznej embriogenezy. Badania rozpoczęłam dzięki umiejętnościom nabytym w czasie kilkukrotnych pobytów naukowych w Zakładzie Genetyki i Fizjologii Drzew Leśnych oraz Pracowni Nasiennej w Instytucie Badawczym Leśnictwa w Sękocinie Starym u mgr. (obecnie dr.) Krystyny Szczygieł, która jako jedna z pierwszych osób zajmowała się niniejszą tematyką w Polsce oraz dzięki kilku konsultacjom z dr Krystyną Klimaszewską z BC Research Inc., Forest Biotechnology Center, prowadzącą badania w tym zakresie w Kanadzie. Od tego czasu studia nad somatyczną embriogenezą gatunków drzew iglastych stały się moim głównym kierunkiem w dalszej pracy zawodowej. W roku 2001 uzyskałam finansowanie mojego pierwszego rocznego projektu badawczego (nr 6P06C 025 20) ze środków Komitetu Badań Naukowych (**Załącznik 4, II pkt 9 IA.1**). Uzyskanie niniejszego finansowania oraz doświadczenie zdobyte w laboratorium w Sękocinie Starym pozwoliły mi na dalszy rozwój badań w tej dziedzinie, co ostatecznie zaowocowało otwarciem przewodu doktorskiego w 2002 roku. Pierwsze wyniki dotyczące inicjacji kultur embriogennych i rozwoju somatycznych zarodków świerka opublikowałam jako współautor z mgr. K. Szczygieł w 2003 roku (**Załącznik 4, II pkt 4.A6**).

Głównym zagadnieniem realizowanym w ramach pracy doktorskiej było opracowanie metody mikrorozmnażania czterech gatunków świerka (*Picea abies*, *P. omorika*, *P. pungens* 'Glauca' i *P. breweriana*) oraz analiza czynników wpływających na przebieg somatycznej embriogenezy u tych taksonów. Zagadnieniem dodatkowym była analiza morfologii zarodków somatycznych oraz testowanie reakcji tkanki embriogennej świerka na warunki kriokonserwacji. W pracy wykazano, że indukcja procesu somatycznej embriogenezy zachodziła u wszystkich testowanych taksonów, natomiast przeżywalność uzyskanych tkanek embriogennych zależała od gatunku świerka. Podczas dalszych badań stwierdzono, że możliwe jest uzyskanie kompletnego rozwoju somatycznych roślin świerka pospolitego i serbskiego. Dla pozostałych dwóch gatunków już uzyskanie somatycznych zarodków nastęczało wiele trudności z powodu niskiej przeżywalności otrzymanych tkanek embriogennych. Zaobserwowano, że proces dojrzewania somatycznych zarodków poszczególnych linii *Picea abies* i *P. omorika* był determinowany przede wszystkim genotypem eksplantatu, z którego uzyskano tkankę embriogeną. Jednakże w przypadku niektórych linii embriogennych podanie do pożywek glikolu polietylenowego o masie cząsteczkowej 3500 wraz z kwasem absysynowym (ABA), w stężeniach 40 lub 60 μM , pozwoliło na zwiększenie liczby somatycznych zarodków w stadium liścieniowym, które ostatecznie mogły potencjalnie dać początek somatycznym (wegetatywnym) siewkom. W badaniach nad dalszym etapem somatycznej embriogenezy wykazano, że istotnym problemem jest uzyskanie prawidłowo kiełkujących zarodków obu gatunków świerka wskutek słabej synchronizacji wzrostu hipokotylu i korzenia. Niemniej jednak udowodniono, że po otrzymaniu prawidłowego wzrostu obu organów, uzyskanie w pełni wykształconych somatycznych siewek *Picea abies* i *P. omorika*, zdolnych do aklimatyzacji w warunkach *ex vitro*, jest możliwe.

W czasie realizacji badań zaobserwowano również, że linie embriogenne badanych gatunków świerka cechowały się zróżnicowaną morfologią zarówno pomiędzy gatunkami, jak i w obrębie danego gatunku świerka, co znalazło odzwierciedlenie w różnych kompetencjach embriogennych analizowanych linii (klonów). Ważnym elementem pracy było również wykazanie, że testowane linie embriogenne *Picea abies* i *P. omorika* reagowały pozytywnie na zamrożenie tkanek w ciekłym azocie. W pracach nad somatyczną embriogenezą ma to szczególne znaczenie, ponieważ pozwala na długoterminowe przechowanie cennego materiału roślinnego zarówno w celach badawczych, jak i aplikacyjnych (np. tkanki embriogenne uzyskane dla elitarnych genotypów drzew gatunków leśnych). Badania złożone na moją pracę doktorską zostały sfinansowane przez Komitet Badań Naukowy w ramach grantu

promotorskiego (nr 3P06L 055 25) przyznanego na lata 2003-2005. Obrona pracy miała miejsce w Instytucie Dendrologii PAN w dniu 20.06.2005 roku. Promotorem pracy była pani prof. dr hab. Krystyna Bojarczuk, natomiast recenzentami prof. dr hab. Maciej Zenkter z UAM w Poznaniu i prof. dr hab. Franciszek Dubert z IFR w Krakowie. Większość wyników badań przeprowadzonych w czasie realizacji pracy doktorskiej opublikowano w trzech artykułach naukowych (**Załącznik 4, II pkt 4.A7, 8 i 9**).

Realizując doktorat (w latach 2001-2005) byłam jednocześnie wykonawcą w kolejnym projekcie badawczym (nr 6P06L04121) prof. dr hab. Krystyny Bojarczuk (**Załącznik 4, II pkt 9 IA.3**), którego celem było m.in. określenie wpływu skażonej gleby i podłoża (piasek + perlit) zawierającego związki miedzi, ołowiu i glinu na rozwój części nadziemnej i systemu korzeniowego siewek brzozy (*Betula pendula* Roth.). Wykazano między innymi, że rośliny rosnące w glebie skażonej, pochodzącej z terenu zanieczyszczonego przez Hutę Miedzi w Głogowie, cechowały się słabym rozwojem biomasy w porównaniu do roślin rosnących w glebie nieskażonej, pochodzącej z Lasu Doświadczalnego „Zwierzyniec” w Kórniku. Badania wykazały, że na słaby rozwój siewek w glebie skażonej miał wpływ nie tylko deficyt składników pokarmowych i wysoki poziom zanieczyszczeń, ale także ograniczony rozwój mikroflory glebowej, w szczególności grzybów mykoryzowych. Z kolei badania prowadzone w kulturach *in vitro* wykazały, że wzrost stężenia jonów Cu, Pb i Al był powiązany z ich toksycznym oddziaływaniem na rozwój kultur topoli i brzozy. W ramach projektu uzyskano w kulturach *in vitro* rośliny o zwiększonej tolerancji na toksyczne jony zawarte w glebie, co potencjalnie umożliwiło ich wykorzystanie do zagospodarowania zdegradowanego przez przemysł środowiska.

W kolejnych latach po uzyskaniu stopnia naukowego doktora moja praca badawcza koncentrowała się wokół zagadnienia optymalizacji procesu somatycznej embriogenezy świerka pospolitego i serbskiego w celu zwiększenia wydajności produkcji somatycznych siewek, uzyskanych tą metodą. Drugim ważnym zagadnieniem badawczym było opracowanie innowacyjnej metody kriokonserwacji uzyskanych tkanek embriogennych, w oparciu o stopniową dehydratację tkanek przed ich zamrożeniem w ciekłym azocie. Dalszy postęp w moich badaniach w tej tematyce był możliwy dzięki uzyskaniu finansowania kolejnego projektu badawczego (nr NN 309 130 837 na lata 2009-2014) w ramach środków z Narodowego Centrum Nauki (**Załącznik 4, II pkt 9 IB.1**). Otrzymane środki finansowe pozwoliły mi na rozwinięcie kolejnych badań oraz na odbycie kilku wizyt naukowych w laboratoriach europejskich. W roku 2006 przeprowadziłam konsultacje z dr. Dietrichem

Ewaldem i dr Gisela Naujoks z Institute for Forest Genetics and Forest Tree Breeding w Waldsieversdorf (Niemcy), w celu poprawienia wydajności produkcji somatycznych zarodków przez uzyskane linie świerków. W roku 2010 byłam z wizytą naukową w I.N.R.A. UR Research Unit on Breeding, Genetic and Physiology of Forest Trees (Ardon) Orleans (Francja) u dr Marie-Anne Lelu-Walter. Podczas tej wizyty odbyłam konsultacje z zakresu najnowszej metodyki dojrzewania i kiełkowania somatycznych zarodków na przykładzie modrzewia. Z dr Caroline Teyssier i dr. Philippe Labellem konsultowałam się w zakresie metodyki prowadzenia analiz proteomicznych i genetycznych w badaniach nad somatyczną embriogenezą drzew. W latach 2011 i 2012 odbyłam dwie wizyty naukowe w Institute of Plant Genetics and Biotechnology SAS w Nitrze (Słowacja), których głównym celem było zapoznanie się z metodyką prowadzenia zawieszinowych kultur tkankowych drzew, z którymi pracowała dr Terezia Salaj. W czasie pierwszej wizyty wygłosiłam, na zaproszenie dr Salaj, referat pt. „Application of a pre-growth-dehydration method for cryopreservation of embryogenic tissues of Serbian spruce” na seminarium w tamtejszym Instytucie w dniu 01.06.2011 r.

W trakcie badań prowadzonych w ramach doktoratu stwierdziłam, że poziom indukcji tkanek embriogennych badanych gatunków świerka nie przekraczał na ogół 25-30%. W związku z tym uznałam, że należy przyjrzeć się wpływowi różnych typów auksyn i cytokinin, podanych w odpowiednich dawkach i układach do pożywek, na pierwsze etapy procesu somatycznej embriogenezy u obu taksonów. Wyniki wspomnianych badań wchodziły w skład osiągnięcia naukowego i zostały omówione przeze mnie wcześniej (**Załącznik 4, I pkt 2.B1**).

Pozytywna odpowiedź tkanek embriogennych *Picea abies* i *P. omorika* na przechowanie w ciekłym azocie, uzyskana podczas pracy w ramach doktoratu, skłoniła mnie do opracowania prostej metody kriokonserwacji we współpracy z prof. dr. hab. Pawłem Chmielarem (ID PAN). Podjęte badania miały szczególne znaczenie dla długoterminowego przechowywania kultur embriogennych endemicznego gatunku świerka, jakim jest świerk serbski, dla którego nie wypracowano jeszcze wówczas efektywnego protokołu kriokonserwacji. Opracowana przeze mnie metoda stopniowej dehydratacji (*ang. pre-growth dehydration method*) nie wymaga traktowania tkanek toksycznym krioprotektantem (DMSO), który jest rutynowo stosowany w innych metodach kriokonserwacji. Uzyskane wyniki omówiono wcześniej, gdyż zawarte są w dwóch pracach, wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (**Załącznik 4, I pkt 2.B4 i 5**). Obie indeksowane prace były wielokrotnie cytowane

przez zagranicznych badaczy, zajmujących się krioprzechowywaniem materiału roślinnego. W 2009 roku mój plakat, prezentujący część uzyskanych wyników, został wyróżniony w ramach XII Ogólnopolskiej Konferencji Kultur *In Vitro* i Biotechnologii Roślin w Poznaniu. Wyniki tych doświadczeń zostały również zauważone również podczas 7 Międzynarodowego Sympozjum „*In Vitro* Culture and Horticultural Breeding. Biotechnological Advances in *In Vitro* Horticultural Breeding” w Ghent (Belgia) w 2011 roku, podczas której zostałam poproszona o zaprezentowanie swojego plakatu na sesji referatowej.

Materiał roślinny przechowywany w ciekłym azocie może być narażony na wystąpienie pewnych zmian genetycznych. W związku z tym uznałam za konieczne przeprowadzenie analizy stabilności genetycznej DNA kriokonserwowanej tkanki embriogennej i somatycznych zarodków na przykładzie świerka pospolitego. Analizie zostało poddanych pięć wybranych jądrowych *loci* mikrosatelitarnych (SpAGC1, SpAGC2, SpAGG3, SpAC1H8 i SpAC1F7). Uzyskane wyniki zostały przedstawione wcześniej, ponieważ wchodziły one w skład pracy ujętej w osiągnięciu naukowym (**Załącznik 4, I pkt 2.B 5**). Biorąc pod uwagę fakt, że stabilność genetyczna materiału roślinnego, uzyskanego zarówno w wyniku hodowli *in vitro*, jak i po kriokonserwacji, ma kluczowe znaczenie w praktycznym wykorzystaniu obu metod, postanowiłam przeprowadzić kolejną analizę materiału dla większej liczby genotypów obu gatunków świerka. Do badań zostały włączone dodatkowych pięć *loci* mikrosatelitarnych (EATC2.B02, WS0023.B03, WS0019.M09, WS0022.B15 i WS00716.F13), w celu uzyskania precyzyjniejszego wyniku. Przeprowadzone analizy ujawniły, że istnieje możliwość wystąpienia zmian somaklonalnych podczas rozwoju somatycznych zarodków w kulturze *in vitro* obu gatunków świerka w badanych *loci*. Tego typu zmienność zarejestrowałam także po kriokonserwacji materiału opracowaną metodą, choć w ograniczonym zakresie (**Załącznik 4, II pkt 4.A14**).

Moje dalsze badania dotyczyły próby optymalizacji procesu dojrzewania i kiełkowania somatycznych zarodków *Picea abies* i *P. omorika*, poprzez określenie wpływu stężenia kwasu abscysynowego i ciśnienia osmotycznego pożywek, regulowanego poprzez ich uzupełnienie zwiększonymi dawkami sacharozy i Phytagelu, na wzrost i rozwój zarodków. Rozwój zarodków i ich kiełkowanie są powiązane ze zmianami w akumulacji materiałów zapasowych, m.in. skrobi. W związku z tym dokonano analizy zmian zawartości skrobi w zarodkach, które były poddane działaniu wyżej wymienionych czynników. Uzyskane wyniki zostały ujęte w jednej z prac wchodzących w skład dzieła naukowego i zostały omówione wcześniej (**Załącznik 4, I pkt 2.B3**).

Ważnym zagadnieniem, nad którym pracowałam wraz z moim magistrantem – panem Mikołajem Wawrzyniakiem, było zdiagnozowanie możliwości poprawy jakości somatycznych siewek *P. abies* i *P. omorika*, po zastosowaniu zabiegu częściowego podsuszania i suszenia somatycznych zarodków, uzyskanych w procesie dojrzewania. Testowane procedury stosowane są przez niektórych badaczy, którzy dysponują odpowiednią liczbą prawidłowo ukształtowanych zarodków w stadium liścieniowym (dojrzałym) i według doniesień dają one często pozytywne rezultaty. Obniżenie zawartości wody w zarodkach skutkuje na ogół poprawą jakości siewek i wzrostem liczby roślin, zdolnych do aklimatyzacji w warunkach szklarniowych. W naszych badaniach somatyczne zarodki w stadium liścieniowym zostały poddane procedurze podsuszania w warunkach relatywnie wysokiej wilgotności względnej powietrza (97%) lub suszeniu w obecności nasyconego roztworu soli $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (79%). Uzyskane wyniki wykazały najwyższą skuteczność procedury częściowego podsuszania dla zarodków *Picea abies*, dla którego stwierdzono 45% poziom konwersji dojrzałych zarodków w siewki, po dwóch tygodniach traktowania 97% wilgotnością powietrza. Poprawienie jakości siewek wiązało się z pobudzeniem wzrostu korzonków zarodkowych u tego gatunku świerka. Natomiast w przypadku zarodków *P. omorika* procedura ta okazała się nieskuteczna, ze względu na słaby wzrost hipokotyli, co uniemożliwiło uzyskanie prawidłowo wykształconych siewek. Wyniki naszego eksperymentu wykazały, że druga testowana procedura była mniej skuteczna, a nawet prowadziła do obumierania zarodków, gdy okres podsuszania przy wilgotności powietrza na poziomie 79% trwał dłużej niż dwa tygodnie. Otrzymane wyniki zostały opublikowane i dołączone do niniejszego autoreferatu (**Załącznik 4, II pkt 4.A10**).

Kolejne badania nad wpływem stresu osmotycznego, wywołanego przez różne stężenia glikolu polietylenowego o masie cząsteczkowej 4000, poszerzyły moją wiedzę w zakresie optymalizacji procesu rozwoju, dojrzewania i konwersji somatycznych zarodków w somatyczne siewki testowanych gatunków świerka. Badania prowadziłam i wyniki opublikowałam wraz z mgr. Wawrzyniakiem (**Załącznik 4, II pkt 4.A15**). Glikol polietylenowy o tej masie jest stosowany w celu poprawienia jakości somatycznych zarodków niektórych gatunków drzew iglastych. Jednakże z naszej pracy wynika, że w przypadku świerka jego wpływ może być uzależniony od gatunku drzewa oraz od genotypu uzyskanej tkanki embriogennej, z której rozwijają się somatyczne zarodki. Otrzymane przez nas wyniki wskazują, że zastosowanie glikolu polietylenowego o tej masie jest ograniczone, ponieważ

niektóre linie embriogenne, jak testowana przez nas linia *P. omorika*, pozostają nieczułe na poziom stresu, wywołany obecnością tego czynnika w pożywce.

W latach 2008-2012, poza realizacją własnych projektów badawczych, pełniłam rolę głównego wykonawcy w projekcie realizowanym przez prof. dr hab. Krystynę Bojarczuk (nr NN 309 296 534) i wykonawcy w projekcie dr. hab. Pawła Chmielarza (nr 0720/B/PO/2009/36; **Załącznik 4, II pkt 9 IB.3 i 4**). Pierwszy projekt dotyczył wpływu grzybów mykoryzowych na aklimatyzację sadzonek topoli i brzozy, uzyskanych z kultur *in vitro*, które hodowano w podłożach o różnym stopniu skażenia metalami ciężkimi. Wyniki badań wykazały m.in., że inokulacja mikrosadzonek z kultur *in vitro* grzybami mykoryzowymi może zwiększyć poziom ich adaptacji do warunków stresowych, będących efektem skażenia gleby metalami ciężkimi. Uzyskane rezultaty mają znaczenie nie tylko poznawcze, ale i aplikacyjne (wykorzystanie tych sadzonek w fitoremediacji skażonych gleb przemysłowych). Wyniki prac prowadzonych w tym projekcie zostały opublikowane m.in. w artykule naukowym w 2015 roku, którego jestem współautorką (**Załącznik 4, II pkt 4.A11**). W drugim projekcie uczestniczyłam w badaniach nad stabilnością epigenetyczną nasion i tkanek roślin drzewiastych przechowywanych w ciekłym azocie (-196°C).

Po uzyskaniu pozytywnych wyników mikrorozmnażania dwóch gatunków świerka metodą somatycznej embriogenezy i opracowaniu procedury kriokonserwacji kultur embriogennych, zainicjowałam badania nad zastosowaniem tych metod w mikrorozmnażaniu ważnego gospodarczo drzewa leśnego – *Fagus sylvatica*. Uzyskałam finansowanie z NCN projektu badawczego nr N N309 705 240, który realizowałam w latach 2011-2016 (**Załącznik 4, II pkt 9 IB.2**). Badania nastroczały jednak wiele trudności z zaindukowaniem procesu embriogenezy, co było związane m.in. z ograniczoną dostępnością nasion z niedojrzalymi zarodkami (buk owocował skąpo w tych latach), a także ze słabą reakcją różnego typu testowanych eksplantatów (włączając niedojrzałe i dojrzałe zarodki, osie zarodkowe, liścienie i liście z młodych siewek oraz z pędów bocznych, uzyskanych z podpędzanych żywokołów) na zadane warunki hodowli. Wyniki moich badań konsultowałam z dr. Dietrichem Ewaldem i dr. Gisela Naujoks, którzy otrzymali pojedyncze somatyczne siewki buka zwyczajnego. Ostatecznie po przeprowadzeniu badań uzyskałam jedynie kalus o charakterze nieembriogenym lub kalus, który pod względem cech morfologicznych i strukturalnych był zbliżony do kalusa nieembriogenego, jednak nie był zdolny do regeneracji somatycznych zarodków. Pozytywnym wynikiem moich badań w tym projekcie było natomiast zaindukowanie procesu organogenezy, który w przypadku buka zwyczajnego był rzadko

badany. Wyniki badań nad mikrorozmnażaniem buka zwyczajnego zostały opublikowane w 2015 i 2016 roku (**Załącznik 4, II pkt 4.A12 i 13**).

W latach 2012-2017 byłam wykonawcą projektu dr Agnieszki Szuby (Pracownia Proteomiki ID PAN; nr projektu: DEC-2011/03/D/NZ9/05500), który dotyczył wpływu ektomykoryz na tolerancję topoli na ołów w aspekcie analiz proteomicznych i metabolomicznych. Jednym z ważniejszych wniosków, wynikających z przeprowadzonych badań jest fakt, że inokulacja sadzonek topoli *Populus x canescens* szczepem grzyba tolerującego obecność ołowiu w podłożu, pozwoliła poprawić wzrost rośliny-gospodarza, co może przyczynić się do zwiększenia potencjału fitoremediacji tego metalu ciężkiego. Wyniki uzyskane w kontrolowanych warunkach kultur *in vitro* stanowią punkt wyjścia do podjęcia dalszych badań na roślinach uprawianych w warunkach polowych, w celu opracowania skutecznej technologii remediacji gleb (**Załącznik 4, II pkt 4.A16**).

W latach 2013-2017 byłam również wykonawcą w projekcie dr. hab. Pawła Chmielarza (nr projektu: EO-2717-4/13), który dotyczył zachowania zasobów genowych zagrożonych i ginących gatunków metodami kriogenicznymi i ochrony zasobów genowych najstarszych drzew w Polsce, w oparciu o klonowanie *in vitro* i kriokonserwację. Projekt był finansowany przez Dyрекcję Generalną Lasów Państwowych (**Załącznik 4, II pkt 9 I.B6**).

W roku 2017 staż odbywała w naszym Instytucie doktorantka Asma Taib z National Agricultural School – ENSA, Ex: INA, El Harrach z Algierii, która pracowała nad możliwością mikrorozmnażania jałowca hiszpańskiego (*Juniperus thurifera*). Jej pobyt zainspirował mnie do napisania pracy przeglądowej dotyczącej rozmnażania przedstawicieli rodzaju *Juniperus* z wykorzystaniem kultur *in vitro*. Praca ukazała się w 2019 roku w czasopiśmie *Forests* (**Załącznik 4, II pkt 4.A17**).

W roku 2019 podjęłam współpracę z naukowcami z Instytutu Zasobów Naturalnych (Luke) w Savonlinna'ie w Finlandii. Prowadziłam badania nad zwiększeniem wydajności somatycznej embriogenezy i jakości zarodków somatycznych *P. abies* w oparciu o kultury zawieszinowe. Głównym ograniczeniem zastosowania procesu somatycznej embriogenezy świerka pospolitego na skalę komercyjną są nadal wysokie koszty związane z pracami manualnymi podczas prowadzenia kultur *in vitro*, które są czasochłonne i wymagają wysoko wykwalifikowanego personelu. Prowadzone badania zmierzają w kierunku automatyzacji procesu celem poprawienia opłacalności produkcji materiału roślinnego poprzez somatyczną embriogenezę. Ważnym etapem byłoby przejście z mnożenia tkanek embriogennych

na podłożu półpłynnym do mnożenia w tzw. kulturach zawieszinowych. Uzyskane wyniki badań wykazały, że tempo namnażania tkanek w zawieszinie było takie samo, jak na podłożach półpłynnych, ale z wyraźną zmiennością genotypową. Zastosowanie dodatkowego zabiegu przepłukiwania tkanek hodowanych w zawieszinie komórkowej, z wykorzystaniem podłoża półpłynnego pozbawionego regulatorów wzrostu, poprawiło wydajność produkcji zarodków, która była zbliżona do wydajności produkcji na podłożu półpłynnym. Badania wykazały, że nie było znaczącej korelacji pomiędzy aktywnością peroksydazy gwajakolowej lub stężeniem H_2O_2 , a jakością somatycznych zarodków czy wzrostem tkanki embriogennej w zawieszinie komórkowej. W grudniu ubiegłego roku ukazał się nasz wspólny artykuł naukowy w czasopiśmie *Frontiers in Plant Sciences*, podsumowujący wyniki tych badań (**Załącznik 4, II pkt 4.A18**).

W bieżącym roku natomiast ukazał się artykuł przeglądowy mojego współautorstwa, dotyczący możliwości zastosowania somatycznej embriogenezy dwóch, ważnych dla europejskiego leśnictwa, gatunków drzew leśnych: świerka pospolitego i sosny zwyczajnej w kontekście zachodzących zmian klimatycznych i kryzysu związanego z zachowaniem bioróżnorodności biologicznej obu taksonów. Praca została opublikowana w czasopiśmie *Forests* (**Załącznik 4, II pkt 4.A19**).

Obecnie jestem wykonawcą w projekcie finansowanym przez Dyрекcję Generalną Lasów Państwowych (nr projektu: EO.271.3.7.2018), którego kierownikiem jest prof. dr hab. Paweł Chmielarz. Projekt obejmuje zagadnienia długoterminowego przechowywania nasion dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) (**Załącznik 4, II pkt 9 II.7**).

Mój dotychczasowy dorobek publikacyjny obejmuje 19 pozycji (bez uwzględnienia doniesień konferencyjnych i publikacji popularnonaukowych). Wszystkie prace zostały opublikowane w indeksowanych w bazie JCR czasopismach o zasięgu międzynarodowym, takich jak: *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *Acta Physiologia Plantarum*, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, *Dendrobiology*, *Forests*, *Frontiers in Plant Science*, *International Journal of Molecular Sciences*, *New Forests*, *Plant and Soil*, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Publikacje w których jestem autorem były cytowane wg bazy Web of Science w sumie **168/132**. Indeks Hirscha (HI) wynosi 7, sumaryczny impact factor zgodnie z rokiem opublikowania – **32,278**.

Wyniki swoich badań prezentowałam samodzielnie lub jako współautor na 41 konferencjach międzynarodowych i krajowych (po doktoracie 38, w tym 13 podczas konferencji międzynarodowych; **Załącznik 4, II pkt 7**). Jak już wspomniałam wcześniej,

mój plakat pt. „Indukcja i proliferacja tkanek embriogennych świerka serbskiego (*Picea omorika*) oraz ich utrzymanie w ciekłym azocie”, przygotowany wspólnie z P. Chmielarem, M. Michalakiem oraz K. Bojarczuk został nagrodzony w ramach XII Krajowej Konferencji Biotechnologii *in vitro* i Roślin. Integracja Biotechnologii, Biologii Molekularnej i Praktyki Rolniczej w kulturach *in vitro* w Poznaniu (09-11.09.2009 r).

W poprzednich latach występowałam do Narodowego Centrum Nauki z wnioskiem o finansowanie moich dalszych badań (OPUS 13, OPUS 15 i OPUS 20), niestety mimo obiecujących recenzji, bez sukcesu w finansowaniu badań. Dlatego planuję złożyć kolejny wniosek w bieżącym roku.

h) Plany badawcze

W najbliższym czasie zamierzam poszerzyć moje badania o poznanie mechanizmów molekularnych i biochemicznych, odpowiedzialnych za poszczególne etapy somatycznej embriogenezy. Poznanie mechanizmów sterujących somatyczną embriogenezą u gatunków drzew iglastych **pozwoili na zwiększenie wydajności techniki mikrorozmnażania**, opartej na tym procesie, co jest niezwykle ważne przy wprowadzeniu somatycznej embriogenezy jako metody uzupełniającej do leśnych programów hodowlanych. Moim celem będzie również rozwinięcie badań nad możliwościami rozmnażania elitarnych genotypów drzew z eksplantatów pochodzących z tkanek wegetatywnych, np. z młodych pąków, pozyskiwanych wczesną wiosną z konkretnych osobników. Badania w tym zakresie pozwoliłyby w przyszłości **na masowe mnożenie dokładnych kopii organizmów rodzicielskich o cechach pożądanых przez gospodarkę leśną, a w konsekwencji na rozwój leśnictwa klonalnego, które generowałoby znacznie większy zysk genetyczny w porównaniu z dotychczasowymi metodami hodowli**. W przyszłości planuję również skoncentrować się na zagadnieniu mykoryzacji sadzonek somatycznych wybranych gatunków drzew leśnych, w celu **ułatwienia ich adaptacji do warunków naturalnych w przyszłych plantacjach leśnych**. Moim nadrzędnym celem będzie rozwijanie współpracy z zagranicznymi ośrodkami badawczymi w Finlandii i Szwecji, a także nawiązywanie kontaktów naukowych w ramach akcji COST, jeśli obecnie złożony wniosek zostanie rozpatrzony pozytywnie.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Brak

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

A) osiągnięcia dydaktyczne:

1. Asystowanie w zajęciach ze studentami I roku Biologii w Zakładzie Botaniki Ogólnej UAM (łącznie 45 godzin) i II roku Biotechnologii w Zakładzie Fizjologii Roślin UAM (łącznie 45 godzin).
2. Opieka nad dwiema praktykantkami Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego – Kają Gąsior i Patrycją Adamczyk, które zapoznawałam z metodyką prowadzenia kultur *in vitro* - okres 2 miesiące (2010).
3. Opieka nad magistrantką Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu - Dominiką Robak, która odbyła tygodniową praktykę (28.07.-04.08.2017) w laboratorium kultur *in vitro*.
4. Opiekun pracy magisterskiej mgr. Mikołaja Wawrzyniaka w latach 2012-2013, która dotyczyła problematyki optymalizacji procesu kiełkowania i konwersji somatycznych zarodków świerka pospolitego i serbskiego w kulturze *in vitro*. Temat pracy był ściśle powiązany z nurtem moich badań nad optymalizacją procesu somatycznej embriogenezy u obu gatunków świerka. Praca została obroniona 12.09.2013 roku z wynikiem bardzo dobrym.
5. Opieka nad uczennicą II Liceum Ogólnokształcącego im. Generałowej Zamoyskiej i Heleny Modrzejewskiej w Poznaniu w okresie 12.01.-15.12.2015, która pod moim kierunkiem wykonywała pracę przedmiotową, stanowiącą element oceny końcowej egzaminu maturalnego w języku angielskim. Praca dotyczyła oceny wpływu niskiej temperatury na wzrost tkanki embriogennej *Picea abies* i *P. omorika* w kulturze *in vitro*. Maturzystka uzyskała ocenę bardzo dobrą.
6. Opieka nad doktorantką Asmą Taib z National Agricultural School – ENSA, Ex: INA, El Harrach z Algierii, która w Pracowni Biologii Rozmnazania i Genetyki Populacyjnej wykonywała część pracy doktorskiej pt.: „Micropropagation and recovery through biotechnology of Cade Juniper (*Juniperus thurifera*) in Algeria” w okresie od 20.09-18.12.2017. Cel pracy: zaindukowanie i ocena skuteczności metodyki somatycznej embriogenezy w mikrorozmnazaniu rzadkiego dla Algierii gatunku jałowca.

7. Wielokrotna prezentacja laboratorium kultur *in vitro* dzieciom i młodzieży z okolicznych szkół, które odwiedzały Instytut Dendrologii PAN w ramach zajęć uzupełniających.
8. Organizowanie lekcji i zajęć pokazowych (również on-line) dla dzieci ze szkoły podstawowej w Kórniku, Bninie, Szczodrzykowie, Robakowie, Radzewie i Kamionkach podczas Kórnickich Dni Nauki w latach 2015-2021.
9. Organizacja wycieczki edukacyjnej do Instytutu Dendrologii PAN dla dzieci przedszkolnych i wczesnoszkolnych, pochodzących z Ukrainy, celem integracji z kórnickim środowiskiem (25.08.2021).
10. Organizacja jednodniowych warsztatów dla szkół podstawowych i gimnazjalnych na XI i XII Poznańskim Festiwalu Nauki i Sztuki, dotyczących tematyki rozmnażania drzew metodą *in vitro* (24.04.2018; 09.04.2019).
11. Zajęcia ze studentami studiów magisterskich kierunku Biotechnologia Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego, w dniach 14.05.2015, 19.05.2016 i 22.05.2017 roku w zakresie mikrorozmnażania.
12. Szkolenie w zakresie techniki somatycznej embriogenezy dla badaczy z Laboratorium Genetyki i Biotechnologii Instytutu Leśnego NAS z Białorusi (Dzmitry W. Kulahin, Marina P. Kusienkova i Andrei Konstantinov) w okresie 08.07-30.09.2019.
13. Opiekun stażu naukowego pani dr inż. Agaty Koneckiej z Instytutu Nauk Leśnych SGGW w Warszawie z zakresu mikrorozmnażania i analizy procesów wzrostowych wybranych gatunków drzew iglastych i liściastych w okresie 01.10. do 31.12.2021 roku.

B) osiągnięcia organizacyjne

1. Udział w przygotowywaniu materiałów dla uczestników konferencji „Nowe technologie w szkółkarstwie ozdobnym”, która była współorganizowana przez dr hab. Krystynę Bojarczuk z Instytutu Dendrologii PAN i Akademię Rolniczą w Poznaniu (lipiec-sierpień 2000 rok).
2. Udział w obsłudze osób zwiedzających Arboretum Kórnickie w ramach „Dni azalii i różaneczników” (1999-2005).
3. Udział w organizacji XVIII i XIX Seminarium Mrozoodporności (2013 i 2015 rok).

4. Nawiązywanie kontaktów naukowych ze specjalistami w dziedzinie kultur *in vitro*, proteomiki i biochemii.
5. Organizowanie kilku pobytów gości zagranicznych w Instytucie Dendrologii PAN (dr T. Salaj w 2014, 2015, 2016, 2017 i 2018 roku oraz doktorantki A. Taib w 2017 roku).
6. Prowadzenie kilku seminariów w ramach spotkań seminaryjnych Instytutu Dendrologii PAN, na których prelekcje wygłaszali zaproszeni przeze mnie goście: dr. T. Salaj (Słowacja; 2016), doktorantka A. Taib (Algieria; 2017), dr. D. Kulus i dr inż. A. Tymoszek (Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy; 2018 i 2020).
7. Opracowywanie wystąpień związanych z popularyzacją nauki dla różnych grup wiekowych, począwszy od dzieci w wieku przedszkolnym po studentów i doktorantów.
8. Zapewnienie sprawnego funkcjonowania laboratorium kultur *in vitro* (organizowanie zbiorów nasion do zainicjowania kultur embriogennych świerków, przygotowywanie zamówień na odczynniki i sprzęty, nadzór nad urządzeniami np. nad terminowością wymiany filtrów w komorach z laminarnym przepływem powietrza, zapewnianie w miarę możliwości sterylnych warunków do prowadzenia kultur *in vitro* w laboratorium i pokoju hodowlanym).
9. Nadzorowanie osób wykonujących prace techniczne związane z prowadzonymi badaniami w ramach projektów badawczych i badań statutowych Instytutu Dendrologii PAN i jednostek współpracujących.
10. Zaangażowanie w wykonywanie znacznej części prac technicznych, związanych z prowadzeniem kultur tkankowych (przygotowywanie pożywek, indukowanie i pasażowanie kultur, sterylizacja szkła i narzędzi etc.).

C) osiągnięcia popularyzujące naukę

1. Opublikowanie artykułów popularnonaukowych w dwutygodniku „Kórniczanie”, w ramach cyklu pod wspólnym tytułem „Wiadomości z Ogrodów Kórnickich”:
 - a) **Hazubska-Przybył T.** 2019. Drzewa i krzewy z *in vitro* w Kórniku. Kórniczanie 22: 18.
 - b) **Hazubska-Przybył T.** 2020. *In vitro* wsparciem dla współczesnego leśnictwa. Kórniczanie 18: 16-17.

- c) **Hazubska-Przybył T.** 2021. Świerk serbski – nie tylko dla ozdoby. *Kórniczanie* 11: 18.
 - d) **Hazubska-Przybył T.** 2022. Rozmnażanie buka w szkle? *Kórniczanie* 5:12-13.
2. Opublikowanie artykułów popularnonaukowych do czasopism o zasięgu ogólnopolskim:
- a) **Hazubska-Przybył T.** 2019. Rośliny drzewiaste korzystają z *in vitro*. *Wiedza i Życie* 11: 66-69.
 - b) **Hazubska-Przybył T.** 2020. Lasy z probówki. Czy to możliwe? [Test-tube forests. Is it possible?] *Wszechświat* 121(10-12): 337-346.
 - c) **Hazubska-Przybył T.** 2021. Rośliny lecznicze i trujące żyją obok nas. *Biologia w Szkole* 5: 44-47.
 - d) **Hazubska-Przybył T.** 2022. Nasiono – podróżnik w czasie i przestrzeni. *Biologia w Szkole* (zaakceptowane do druku).
3. Wystąpienia w filmach popularyzujących naukę:
- a) „Nasiona – początek nowego życia”
Data premiery: 21.11.2020 r.
(Ratajczak E., Wawrzyniak M., Kalemba E., **Hazubska Przybył T.**, Obarska A.)
 - b) „Zamrożone życie drzew”
Data premiery: planowana na bieżący rok
(Chmielarz P., Wawrzyniak M., **Hazubska-Przybył T.**)
7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

Tab. 1. Parametryczna ocena dorobku naukowego

	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
IF	0	32,278	32,278
IF_{5-letni}	1,305	46,865	48,17
MNiSW/MEiN	100	1700	1800
Liczba cytowań (wg Web of Science) stan na 25.04.2022	0	168	168
Liczba cytowań bez auto cytowań (wg Web of Science) stan na 25.04.2022	0	132	132
Indeks Hirscha (wg Web of Science) stan na 25.04.2022	0	7	-----

Tab. 2. Liczba, miejsce i rodzaj publikacji naukowych

Miejsce opublikowania	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
W czasopismach posiadających IF	1	18	19
W czasopismach nieposiadających IF (dawna lista B MNiSW)	0	1	1
inne	2	8	10
Suma:	3	27	30
w tym jako pierwszy autor	3	21	24
jako autor korespondencyjny	0	18	18
Rodzaj publikacji			
prace oryginalne	1	15	16
prace przeglądowe	0	3	3
streszczenia konferencyjne	1	30	31
prace popularnonaukowe	0	8	8

.....
(podpis wnioskodawcy)



Załącznik nr 4

dr Teresa Hazubska-Przybył

Instytut Dendrologii Polskiej Akademii Nauk
Zakład Biologii Rozwoju

**WYKAZ OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH,
STANOWIĄCYCH ZNACZNY WKŁAD W
ROZWÓJ OKREŚLONEJ DYSCYPLINY**

Kórnik, 2022

Informacje zawarte w poszczególnych punktach tego dokumentu powinny uwzględniać podział na okres przed uzyskaniem stopnia doktora oraz pomiędzy uzyskaniem stopnia doktora a uzyskaniem stopnia doktora habilitowanego.

I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

1. Monografia naukowa, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2a Ustawy; lub
2. Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy; lub

A) Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Somatyczna embriogeneza i kriokonserwacja kultur embriogenych *P. omorika* (Pančić) Purk. i *Picea abies* (L.) H.Karst. przy zastosowaniu metody stopniowej dehydratacji”

B) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

1. **Hazubska-Przybył T., Ratajczak E., Kalemba E., Bojarczuk K. 2013.** Growth regulators and guaiacol peroxidase activity during the induction phase of somatic embryogenesis in *Picea* species. *Dendrobiology* 69: 77-86.

Mój udział polegał na zdobyciu środków na badania w ramach projektu naukowego, stworzeniu koncepcji badań, zaindukowaniu, namnożeniu i utrzymaniu tkanki w kulturze in vitro, przeprowadzeniu doświadczeń, zebraniu próbek do analizy biochemicznej oraz wykonaniu dokumentacji fotograficznej kalusów i zaindukowanej tkanki. Byłam odpowiedzialna za zgromadzenie danych do analiz statystycznych. Opracowałam statystycznie wyniki dotyczące indukcji tkanek embriogenych, wzrostu tkanki in vitro w obecności różnych układów regulatorów wzrostu oraz dojrzewania somatycznych zarodków. Dokonałam przeglądu literatury i napisałam większość tekstu manuskryptu. Byłam odpowiedzialna za ostateczny całokształt pracy przed złożeniem do Redakcji. Prowadziłam korespondencję z Redakcją, przygotowałam odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz wprowadziłam poprawki przed opublikowaniem artykułu w czasopiśmie. Mój wkład szacuję na 65%.

IF_{5-letni} - 1,305; IF₂₀₁₃ - 0,525; MEiN₂₀₂₁ - 100

2. **Hazubska-Przybył T., Ratajczak E., Obarska A., Pers-Kamczyc E. 2020.** Different Roles of Auxins in Somatic Embryogenesis Efficiency in Two *Picea* Species. *International Journal of Molecular Sciences* 21(9): 3394. <https://doi:10.3390/ijms21093394>.

Mój udział polegał na współtworzeniu koncepcji badań, zaindukowaniu, namnożeniu i utrzymaniu kultur embriogennych in vitro, przeprowadzeniu doświadczeń, zgromadzeniu danych i zebraniu próbek do analizy zawartości nadtlenu wodoru i peroksydazy gwajakolowej w tkankach embriogennych oraz dokumentację fotograficzną kultur. Dokonałam przeglądu literatury i napisałam znaczną część tekstu manuskryptu. Byłam odpowiedzialna za ostateczny całokształt pracy przed złożeniem do Redakcji. Prowadziłam korespondencję z Redakcją, przygotowałam odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz wprowadziłam poprawki przed opublikowaniem artykułu w czasopiśmie. Mój wkład szacuję na 65%.

IF_{5-letni} - 6,132; IF₂₀₂₀ - 5,924; MEiN₂₀₂₁ - 140

- 3. Hazubska-Przybył T., Kalemba E.M., Ratajczak E., Bojarczuk K. 2016.** Effects of abscisic acid and osmoticum on the maturation, starch accumulation and germination of *Picea* spp. somatic embryos. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 59.
[https://doi: 10.1007/s11738-016-2078-x](https://doi.org/10.1007/s11738-016-2078-x).

Mój udział polegał na zdobyciu środków na badania w ramach projektu naukowego, stworzeniu koncepcji badań, zaindukowaniu, namnożeniu i utrzymaniu tkanki w kulturze in vitro, przeprowadzeniu doświadczeń na dojrzwianie oraz kielkowanie somatycznych zarodków w obecności różnych stężeń kwasu abscysynowego, sacharozy i Phytagelu, zebraniu próbek do analizy zawartości skrobi oraz wizualizacji prezentowanych wyników. Byłam odpowiedzialna za zgromadzenie danych i opracowanie statystyczne wyników dotyczących wzrostu materiału roślinnego in vitro. Dokonałam przeglądu literatury i napisałam większą część tekstu manuskryptu. Byłam odpowiedzialna za ostateczny całokształt pracy przed złożeniem do Redakcji. Prowadziłam korespondencję z Redakcją, przygotowałam odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz wprowadziłam poprawki przed opublikowaniem artykułu w czasopiśmie. Mój wkład szacuję na 65%.

IF_{5-letni} - 2,711; IF₂₀₁₆ - 1,364; MEiN₂₀₂₁ - 70

- 4. Hazubska-Przybył T., Chmielarz P., Michalak M., Bojarczuk K. 2010.** Cryopreservation of embryogenic tissues of *Picea omorika* (Serbian spruce). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 102 (1): 35-44.

Mój udział polegał na tworzeniu koncepcji badań, zaindukowaniu, namnożeniu i utrzymaniu tkanki w kulturze in vitro, przeprowadzeniu doświadczeń związanych z prekulturowaniem i zamrożeniem tkanki w ciekłym azocie, zgromadzeniu danych do analiz statystycznych oraz dokonałam dokumentacji fotograficznej tkanki poddanej zabiegowi kriokonserwacji. Zebrałam ponadto literaturę oraz napisałam większość tekstu manuskryptu. Byłam odpowiedzialna za ostateczny całokształt pracy przed złożeniem do Redakcji. Prowadziłam korespondencję z Redakcją, odpowiadałam na uwagi

recenzentów i wprowadziłam poprawki przed opublikowaniem artykułu w czasopiśmie. Mój wkład szacuję na 65%.

IF_{5-letni} - 2,730; IF₂₀₁₀ - 1,243; MEiN₂₀₂₁ - 100

5. **Hazubska-Przybył T., Chmielarz P., Michalak M., Dering M., Bojarczuk K. 2013.** Survival and genetic stability of *Picea abies* embryogenic cultures after cryopreservation using a pregrowth-dehydration method. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 113 (2): 303-313.

Mój udział polegał na zdobyciu środków na badania w ramach projektu naukowego, współtworzeniu koncepcji badań, zaindukowaniu, namnożeniu i utrzymaniu tkanki w kulturze in vitro, przeprowadzeniu doświadczeń związanych z zamrożeniem tkanki w ciekłym azocie. Przeprowadziłam też doświadczenie nad dojrzewaniem somatycznych zarodków i wykonałam dokumentację fotograficzną kriokonserwowanej tkanki i otrzymanych zarodków. Byłam odpowiedzialna za zgromadzenie danych do analiz statystycznych. Dokonałam przeglądu literatury oraz napisałam większość tekstu manuskryptu. Byłam odpowiedzialna za ostateczny całokształt pracy przed złożeniem do Redakcji. Przygotowałam odpowiedzi na uwagi recenzentów i wprowadziłam poprawki przed opublikowaniem artykułu w czasopiśmie. Mój wkład szacuję na 60 %.

IF_{5-letni} - 2,730; IF₂₀₁₃ - 2,612; MEiN₂₀₂₁ - 100

Suma IF (według roku wydania) – 11,668

Suma punktów MEiN – 510

Punkty MEiN według wykazu czasopism naukowych z 1 grudnia 2021 roku.

3. Wykaz zrealizowanych oryginalnych osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych lub artystycznych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2c Ustawy.

W przypadku prac dwu- lub wieloautorских zaleca się złożenie oświadczenia przez habilitanta oraz współautorów wskazujące na ich merytoryczny (a NIE procentowy) wkład w powstanie każdej pracy [np. twórca hipotezy badawczej, pomysłodawca badań, wykonanie specyficznych badań (np. przeprowadzenie konkretnych doświadczeń, opracowanie i zebranie ankiet, itp.), wykonanie analizy wyników, przygotowanie manuskryptu artykułu, i inne]. Określenie wkładu danego autora, w tym habilitanta, powinno być na tyle precyzyjne, aby umożliwić dokładną ocenę jego udziału i roli w powstaniu każdej pracy.

II. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).
Brak
2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.
Brak
3. Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii.
Brak
4. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).

A) Publikacje naukowe opublikowane w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)

Publikacje powstałe podczas trwania doktoratu

6. **Hazubska T., Szczygieł K. 2003.** Induction of somatic embryogenesis in spruce: *Picea omorika*, *P. pungens* Glauca', *P. breweriana* and *P. abies*. *Dendrobiology* 50: 17-24.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował uzyskanie funduszy na przeprowadzenie doświadczeń w ramach projektu dla młodych naukowców ze środków KBN, zaplanowanie i przeprowadzenie doświadczeń na etapie inicjacji kultur embriogennych, namnażania tkanek i dojrzewania somatycznych zarodków, zebranie i analizę statystyczną wyników i ich interpretację, napisanie manuskryptu i jego korektę po recenzjach oraz prowadzenie korespondencji z Redakcją. Mój udział szacuję na 90%.

IF_{5-letni} - 1,305; IF₂₀₀₃ - 0; MEiN₂₀₂₁ - 100

Publikacje powstałe po uzyskaniu stopnia doktora

7. Szczygieł K., **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K. **2007.** Somatic embryogenesis of selected coniferous tree species of the genera *Picea*, *Abies* and *Larix*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 7 (1): 7-15.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zdobycie funduszy na badania w ramach projektu promotorskiego, zaplanowanie i przeprowadzenie doświadczeń dotyczących somatycznej embriogenezy czterech gatunków świerka, zebranie i analizę statystyczną uzyskanych wyników oraz ich interpretację, napisanie części manuskryptu dotyczącej wyników uzyskanych dla świerków i jego korektę po recenzjach. Mój udział szacuję na 20%.

IF_{5-letni} - 1,124; IF₂₀₀₇ - 0,286; MEiN₂₀₂₁ - 70

8. **Hazubska-Przybył T., Bojarczuk K. 2008.** Somatic embryogenesis of selected spruce species (*Picea abies*, *P. omorika*, *P. pungens* 'Glauca' and *P. breweriana*). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 77 (3): 189-199.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zdobycie funduszy na badania w ramach projektu promotorskiego, zaplanowanie i przeprowadzenie doświadczeń, zebranie i analizę statystyczną uzyskanych wyników oraz ich interpretację, wykonanie dokumentacji fotograficznej, napisanie tekstu manuskryptu i jego korektę po recenzjach oraz prowadzenie korespondencji z Redakcją. Mój udział szacuję na 90%.

IF_{5-letni} - 1,124; IF₂₀₀₈ - 0,392; MEiN₂₀₂₁ - 70

9. **Hazubska-Przybył T., Bojarczuk K., Guzicka M. 2008.** Structure of embryogenic tissues and accumulation of storage materials in somatic embryos of *Picea abies* and *P. omorika*. *Dendrobiology* 60: 19-28.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zdobycie funduszy na badania w ramach projektu promotorskiego, zaplanowanie i przeprowadzenie analiz morfologicznych wczesnych stadiów rozwojowych somatycznych zarodków (tzw. typów proembriogenicznych mas PEM), określenie procentowego udziału poszczególnych typów PEM i obecności materiałów zapasowych w rozwijających się somatycznych zarodkach w stadium globularnym i liścieniowym, opisanie uzyskanych wyników analiz oraz ich interpretację, wykonanie dokumentacji fotograficznej typów PEM, napisanie tekstu manuskryptu i jego korektę po recenzjach oraz prowadzenie korespondencji z Redakcją. Mój udział szacuję na 75%.

IF_{5-letni} - 1,305; IF₂₀₀₈ - 0; MEiN₂₀₂₁ - 70

10. **Hazubska-Przybył T., Wawrzyniak M., Obarska A., Bojarczuk K. 2015.** Effect of partial drying and desiccation on somatic seedling quality in Norway and Serbian spruce. *Acta Physiologiae Plantarum* 37: 1-6. [https://doi: 10.1007/s11738-014-1735-1](https://doi.org/10.1007/s11738-014-1735-1)

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zdobycie funduszy na badania w ramach projektu własnego, namnożenie materiału do przeprowadzenia doświadczeń, współudział w projektowaniu eksperymentów i analizie statystycznej danych. Udział w przygotowaniu tekstu manuskryptu do recenzji i jego korekcie po recenzjach. Byłam też odpowiedzialna za prowadzenie korespondencji z Redakcją. Mój udział szacuję na 40%.

IF_{5-letni} - 2,711; IF₂₀₁₅ - 1,563; MEiN₂₀₂₁ - 100

11. **Bojarczuk K., Karliński L., Hazubska-Przybył T., Kieliszewska-Rokicka B. 2015.** Influence of mycorrhizal inoculation on growth of micropropagated

Populus x canescens lines in metal-contaminated soils. *New Forests* 46: 195-215.
<https://doi.org/10.1007/s11056-014-9455-3>.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował udział w namnożeniu materiału roślinnego do zaplanowanych badań, podlewaniu roślin roztworami metali ciężkich w szklarni, zbiór materiału do analiz i wykonanie pomiarów liczby wierzchołków korzeni i ich długości z wykorzystaniem systemu WinRhizo (wersja 5.0), przygotowanie próbek do analiz chemicznych składników podłoża i poszczególnych organów roślinnych (korzenie, pędy i liście), udział w korekcie tekstu manuskryptu. Mój udział szacuję na 20%.

IF_{5-letni} – 2,869; IF₂₀₁₅ - 1,342; MEiN₂₀₂₁ - 70

- 12. Hazubska-Przybył T., Chmielarz P., Bojarczuk K. 2015.** In vitro responses of various explants of *Fagus sylvatica*. *Dendrobiology* 73: 135-144.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zdobycie funduszy na badania w ramach projektu własnego, zaprojektowanie i przeprowadzenie doświadczeń w oparciu o zastosowanie różnych rodzajów eksplantatów do zaindukowania kultur embriogennych, zebranie i analiza statystyczna danych oraz wykonanie dokumentacji fotograficznej, zebranie literatury i napisanie tekstu manuskryptu, przygotowanie tekstu do przedłożenia w Redakcji, korekta po recenzjach oraz prowadzenie korespondencji z Redakcją. Mój udział szacuję na 80%.

IF_{5-letni} - 1,305; IF₂₀₁₅ - 0,643; MEiN₂₀₂₁ - 100

- 13. Hazubska-Przybył T., Bojarczuk K. 2016.** Tree somatic embryogenesis in science and forestry. *Dendrobiology* 76: 105-116.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zdobycie funduszy na badania w ramach projektu własnego, dokonanie krytycznego przeglądu literatury i napisanie tekstu artykułu przeglądowego oraz jego przygotowanie do przedłożenia w Redakcji, odpowiedź na recenzje i korektę artykułu. Byłam autorem korespondencyjnym. Mój udział szacuję na 90%.

IF_{5-letni} - 1,305; IF₂₀₁₆ - 0,776 MEiN₂₀₂₁ - 100

- 14. Hazubska-Przybył T., Dering M.** Somaclonal variation during *Picea abies* and *P. omorika* somatic embryogenesis and cryopreservation. 2017. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 59/1:93-103.
<https://doi.org/10.1515/abcsb-2017-0003>.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zdobycie funduszy na badania w ramach projektu własnego, wyhodowanie materiału in vitro oraz zamrożenie, rozmrożenie

i namnożenie materiału przechowywanego w ciekłym azocie do przeprowadzenia analiz genetycznych, analizę uzyskanych wyników i ich interpretację, napisanie tekstu manuskryptu oraz przygotowanie tekstu do złożenia w Redakcji, przygotowanie odpowiedzi na recenzje. Byłam autorem korespondencyjnym artykułu. Mój udział szacuję na 50%.

IF_{5-letni} - 1,277; IF₂₀₁₇ - 0,933; MEiN₂₀₂₁ - 70

- 15. Hazubska-Przybył T., Wawrzyniak M. 2017.** Stimulation of embryo growth and development in *Picea* spp. by polyethylene glycol. *Dendrobiology* 78: 168-178.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zdobycie funduszy na badania w ramach projektu własnego, namnożenie materiału do przeprowadzenia doświadczeń, zaprojektowanie i współudział w przeprowadzeniu eksperymentów, udział w przygotowaniu tekstu manuskryptu do recenzji i jego korekty po recenzjach. Byłam też odpowiedzialna za prowadzenie korespondencji z Redakcją. Mój udział szacuję na 50%.

IF_{5-letni} - 1,305; IF₂₀₁₇ - 0,761; MEiN₂₀₂₁ - 100

- 16. Szuba A., Karliński L., Krzesłowska M., Hazubska-Przybył T. 2017.** Inoculation with a Pb-tolerant strain of *Paxillus involutus* improves growth and Pb tolerance of *Populus* × *canescens* under *in vitro* conditions. *Plant and Soil* 412: 253-266. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3062-3>.

*Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował namnożenie materiału w kulturze *in vitro* do przeprowadzenia zaplanowanych eksperymentów, współudział w interpretacji wyników oraz przygotowaniu tekstu manuskryptu do publikacji. Mój udział szacuję na 15%.*

IF_{5-letni} - 4,712; IF₂₀₁₇ - 3,306; MEiN₂₀₂₁ - 140

- 17. Hazubska-Przybył T. 2019.** Propagation of juniper species by plant tissue culture: a mini-review. *Forests* 10:1028. <https://doi.org/10.3390/f10111028>.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował dokonanie krytycznego przeglądu literatury i napisanie tekstu artykułu przeglądowego oraz jego przygotowanie do przedłożenia w Redakcji, udzielenie odpowiedzi na recenzje i korektę artykułu. Byłam autorem korespondencyjnym. Mój udział wynosi 100%.

IF_{5-letni} - 2,804; IF₂₀₁₉ - 2,221; MEiN₂₀₂₁ - 100

- 18. Välimäki S., Hazubska-Przybył T., Ratajczak E., Mikko T., Varis S., Aronen T. 2021.** Somatic embryo yield and quality from Norway spruce embryogenic tissue proliferated

in suspension culture. *Frontiers in Plant Science* 12: 791549. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.791549>.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował zaplanowanie i przeprowadzenie doświadczeń dotyczących wskaźników stresu oraz udział w pisaniu i korekcie manuskryptu po recenzjach. Mój wkład szacuję na 10%.

IF_{5-letni} - 6,612; IF_{2020/2021} - 5,754; MEiN₂₀₂₁ - 100

- 19. Hazubska-Przybył T., Wawrzyniak K.M., Kijowska-Oberc J., Staszak M., Ratajczak E. 2022.** Somatic embryogenesis of Norway spruce and Scots pine: possibility of application in modern forestry. *Forests* 13: 155. <https://doi.org/10.3390/f13020155>.

Mój wkład w przygotowanie pracy obejmował dokonanie krytycznego przeglądu literatury i napisanie fragmentów tekstu artykułu przeglądowego (Część wstępu, Eksplantaty i inicjacja SE, Dojrzewanie somatycznych zarodków i Automatyzacja procesu), współudział w wizualizacji wyzwań i potencjalnych rozwiązań problemów związanych z optymalizacją procesu. Mój udział szacuję na 40%.

IF_{5-letni} - 2,804; IF_{2020/2021} - 2,633; MEiN₂₀₂₁ - 100

Suma IF (według roku wydania) – 32,278

Suma punktów MEiN – 1800

Punkty MEiN według wykazu czasopism naukowych z 1 grudnia 2021 roku

- B) Publikacje naukowe opublikowane w czasopismach nieposiadających współczynnika wpływu Impact Factor (IF)**

Szczygieł K., **Hazubska-Przybył T. 2010.** Światowe tendencje wykorzystania metod wegetatywnego rozmnażania drzew. *Leśne Prace Badawcze* 71 (2): 2-4.

MEiN₂₀₁₇ - 13

- C) Publikacje naukowe opublikowane w czasopismach nie znajdujących się w bazie JCR**

Hazubska-Przybył T., Bojarczuk K. 2010. Indukcja, namnażanie i przechowywanie tkanki embriogennej świerka serbskiego w warunkach ciekłego azotu. *Biotechnologia* 2 (89): 96-104.

D) Publikacje popularnonaukowe

1. opublikowane w lokalnym czasopiśmie „Kórniczanie” w ramach cyklu prac popularnonaukowych przygotowanych od 2019 r. przez pracowników Instytutu Dendrologii PAN pod wspólnym tytułem „Wiadomości z Ogrodów Kórnickich”:

Hazubska-Przybył T. 2019. Drzewa i krzewy *in vitro* w Kórniku. Kórniczanie 22: 18.

Hazubska-Przybył T. 2020. *In vitro* wsparciem dla współczesnego leśnictwa. Kórniczanie 18: 16-17.

Hazubska-Przybył T. 2021. Świerk serbski – nie tylko dla ozdoby. Kórniczanie 11: 18.

Hazubska-Przybył T. 2022. Rozmnażanie buka w szkle? Kórniczanie 5: 12-13.

2. opublikowane w czasopismach o zasięgu ogólnopolskim:

Hazubska-Przybył T. 2019. Rośliny drzewiaste korzystają z *in vitro*. Wiedza i Życie 11: 66-69.

Hazubska-Przybył T. 2020. Lasy z probówki. Czy to możliwe? [Test-tube forests. Is it possible?] Wszechświat 121(10-12): 337-346.

Hazubska-Przybył T. 2021. Rośliny lecznicze i trujące żyją obok nas. Biologia w Szkole 5: 44-47.

Hazubska-Przybył T. 2022. Nasiono – podróżnik w czasie i przestrzeni. Biologia w Szkole (zaakceptowane do druku).

5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).
Brak
6. Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji nie wymienionych w pkt I.3).
Brak
7. Informacja o wystąpieniach na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.

KONFERENCJE KRAJOWE

Wystąpienia podczas trwania doktoratu

1. Bojarczuk K., **Hazubska T.** Wpływ glinu na ukorzenie mikrosadzonek brzozy (*Betula pendula* Roth.) i topoli (*Populus tremula* L. x *P. alba* L.) w kulturach *in vitro*. Postępy w rozmnażaniu roślin ozdobnych. Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie, 22-23.09.1999: 57-60. (poster)
2. **Hazubska T.**, Szczygieł K., Bojarczuk K. Mikrorozmnażanie świerka serbskiego, formy sinej świerka kłującego i świerka pospolitego metodą somatycznej embriogenezy. Nowe technologie w szkółkarstwie ozdobnym. Poznań-Kórnik, 08-09.09.2000. (poster)

Grafika: 100-102.

3. **Hazubska T.**, Bojarczuk K. Somatyczna embriogeneza świerków w szkółkarstwie ozdobnym. VIII Naukowa Konferencja Szkółkarska. Aktualne problemy w szkółkarstwie ozdobnym. Rogów, 19-20.02.2003: 46-51. (referat)

Wystąpienia po uzyskaniu stopnia doktora

4. Szczygieł K., **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K. Somatyczna embriogeneza wybranych gatunków drzew iglastych. XI Ogólnopolska Konferencja Kultur *In vitro* i Biotechnologii Roślin. Międzyzdroje, 06-09.09.2006: 102. (poster)
5. **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K. Budowa tkanek embriogennych i akumulacja materiałów zapasowych w somatycznych zarodkach wybranych gatunków świerków. VII Ogólnopolska Konferencja „Kultury *in vitro* w fizjologii roślin. Kraków, 07-08.12.2006: 29. (poster)
6. **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K., Chmielarz P. Kriokonserwacja tkanek embriogennych świerków *Picea abies* (L.) Karst. and *P. omorika* (Pančić) Purk. Botanika w Polsce – sukcesy, problemy, perspektywy. 54 Zjazd Polskiego Towarzystwa Botanicznego, Szczecin, 03-08.09.2007: 114. (referat)
7. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M., Bojarczuk K. Wpływ sposobu traktowania (prekultury) tkanki embriogennej *Picea omorika* (Pančić) Purk. na jej kondycję po rozmrożeniu z ciekłego azotu. XVI Ogólnopolskie Seminarium Sekcji Mrozoodporność Poświęcone 100-nej rocznicy urodzin Prof. dr. Stefana Białoboka. Kórnik, 14-15.05.2009 (referat)

Reakcje roślin na stres niskich temperatur. Paweł M. Pukacki (Red.). Bogucki

Wydawnictwo Naukowe. Poznań: 87-89.

8. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M., Bojarczuk K. Induction and proliferation of embryogenic tissues of Serbian spruce (*Picea omorika*) and their maintenance in liquid nitrogen. XII National Conference *In vitro* Cultures, Poznań 2009. Poznań, 09-11.09.2009. (poster)

Acta Biologica Cracoviensia series Botanica 51(1): 42.

9. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Dering M., Michalak M., Bojarczuk K. Cryopreservation by the vitrification method and genetic stability of embryogenic cultures of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst). Proceedings of the 17th Cold Hardiness Seminar in Kórnik, 17-18.05.2011: 64-68. (referat)
10. **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K., Chmielarz P., Michalak M. Zastosowanie techniki somatycznej embriogenezy i kriokonserwacji w mikrorozmnażaniu drzew ozdobnych i leśnych na przykładzie świerka serbskiego i pospolitego oraz buka zwyczajnego. Materiały i Biomateriały WCZT. Poznań, 28-29.11.2011: 280-281. (poster)
11. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M., Dering M., Bojarczuk K. Vitrification method for cryopreservation of embryogenic tissues of spruce trees (*Picea* ssp.). XIII Overall Polish *in vitro* Culture and Plant Biotechnology Conference Plant Cell – the objective of genetic and physiological manipulations. Rogów, 24-27.09.2012. (referat)

BioTechnologia 93(2): 242.

12. **Hazubska-Przybył T.**, Michalak M., Chmielarz P., Guzicka M., Bojarczuk K., Obarska A. Perspectives of application of the vitrification method in cryopreservation of embryogenic cultures of conifers (*Picea abies* and *P. omorika*). Pukacki P.M. and Pukacka S. (Eds). Proceedings of the 18th Cold Hardiness Seminar in Poland. Kórnik, 14-15.05.2013: 35-45. (referat)
13. **Hazubska-Przybył T.**, Wawrzyniak M., Obarska A., Bojarczuk K. Wpływ desykacji na jakość somatycznych siewek *Picea abies* rodzimego pochodzenia. *Biologia i ekologia roślin drzewiastych*. Instytut Dendrologii PAN. Kórnik-Poznań, 21-23.10.2013: 144. (poster)
14. Bojarczuk K., Kieliszewska-Rokicka B., Kwaśna H., **Hazubska-Przybył T.**, Karliński L. Wpływ grzybów mykoryzowych na proces aklimatyzacji sadzonek topoli i brzozy z kultur *in vitro* w podłożach o różnym stopniu skażenia miedzią i ołowiem. *Biologia*

i ekologia roślin drzewiastych. Instytut Dendrologii PAN. Kórnik-Poznań, 21-23.10.2013: 107-108. (referat Krystyna Bojarczuk)

15. Chmielarz P., Michalak M., **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K, Plitta B., Kotlarski Sz., Płucka M., Wasileńczyk U. Zachowanie zasobów genowych drzew leśnych z wykorzystaniem kriokonserwacji. Biologia i ekologia roślin drzewiastych. Instytut Dendrologii PAN. Kórnik-Poznań, 21-23.10.2013: 122-123. (poster)
16. Szuba A., Karliński L., **Hazubska-Przybył T.** Ectomycorrhizal fungi under lead (Pb⁺²) stress – *in vitro* experiment. Plant – Associated Microorganisms: An important key to a successful application of phytoremediation. Warszawa, 14-17.09.2014. (poster)
17. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Bojarczuk K. Potential possibilities of the induction of European beech (*Fagus sylvatica*) tissue cultures from various types of explants. XIV Ogólnopolska konferencja kultur *in vitro* i biotechnologii roślin. Strukturalne, fizjologiczne i molekularne podstawy różnicowania roślin. Poznań, 14-17.09.2015. (referat)

BioTechnologia 96(1): 55.

18. Wawrzyniak M., **Hazubska-Przybył T.**, Obarska A., Bojarczuk K. Effect of PEG on maturation, germination and conversion frequency of *Picea abies* and *P. omorika* somatic embryos. XIV Ogólnopolska konferencja kultur *in vitro* i biotechnologii roślin. Strukturalne, fizjologiczne i molekularne podstawy różnicowania roślin. Poznań, 14-17.09.2015. (poster)

BioTechnologia 96(1): 108.

19. Szuba A., Karliński L., **Hazubska-Przybył T.**, Mucha J. *In vitro* cultures of *Populus x canescens* inoculated with various strains of ectomycorrhizal *Paxillus involutus* fungi under lead ion stress. XIV Ogólnopolska konferencja kultur *in vitro* i biotechnologii roślin. Strukturalne, fizjologiczne i molekularne podstawy różnicowania roślin. Poznań, 14-17.09.2015. (poster)

BioTechnologia 96(1): 112.

20. **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K., Obarska A. Kultury *in vitro* i kriokonserwacja w zachowaniu różnorodności drzew leśnych z rodzaju *Picea* i *Fagus*. Krajowa konferencja naukowa dedykowana prof. dr. hab. Bolesławowi Suszce w 90. rocznicę urodzin. Biologia i technologia w nasiennictwie drzew i krzewów. Puszczykowo, 24.09.2015: 81-82. (poster)

21. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M., Suszka J., Bojarczuk K. Buk zwyczajny – drzewo odporne wobec metody rozmnażania w kulturach *in vitro*. II Poznańskie Sympozjum Młodych Naukowców. Nowe Oblicze Nauk Przyrodniczych. Poznań, 14.11.2015: 68. (poster)
22. Kotlarski Sz., Obarska A., **Hazubska-Przybył T.**, Michalak M., Chmielarz P. Wpływ warunków hodowli *in vitro* pędów dębu (*Quercus robur* L.) na efektywność ich namnażania. Drzewa i lasy w zmieniającym się środowisku. Instytut Dendrologii PAN. Kórnik-Poznań, 17-19.10.2016: 277-279. (referat Szymon Kotlarski)
23. Michalak M., **Hazubska-Przybył T.**, Suszka J., Tylkowski T., Plitta-Michalak B.P., Chmielarz P. Kriokonserwacja nasion drzew – obecny stan wiedzy i możliwość jej zastosowania w praktyce leśnej. Drzewa i lasy w zmieniającym się środowisku. Instytut Dendrologii PAN. Kórnik-Poznań, 17-19.10.2016: 191-192. (referat Marcin Michalak)
24. **Hazubska-Przybył T.**, Ratajczak E., Kalemba E.M. Wpływ określonych systemów regulatorów wzrostu na aktywność peroksydazy gwajakolowej podczas indukcji somatycznej embriogenezy *Picea* spp. Drzewa i lasy w zmieniającym się środowisku. Instytut Dendrologii PAN. Kórnik-Poznań, 17-19.10.2016 : 260-261. (poster)
25. **Hazubska-Przybył T.**, Salaj T., Obarska A., Guzicka M., Bojarczuk K. The pre-growth dehydration method in cryopreservation of *Abies alba* x *numidica* embryogenic tissue and *Picea omorika* embryos. 19th Cold Hardiness Seminar in Poland. Kórnik, 29-30.09.2015: 43-50. (referat)
26. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Wawrzyniak M., Obarska A., Salaj T. Effectiveness of *Pinus nigra* embryogenic tissue cryopreservation by the step pre-growth dehydration method: preliminary results. Biologia i ekologia roślin drzewiastych. Instytut Dendrologii PAN. Kórnik-Poznań, 11-15.06.2018: 205. (poster)
27. **Hazubska-Przybył T.** Fizjologiczne konsekwencje stosowania wybranych auksyn egzogennych na proces somatycznej embriogenezy *Picea abies* i *P. omorika*. Instytut Dendrologii PAN i PAN Ogród Botaniczny – Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej, Kórnik-Powin: 21.12.2020. Webinarium on-line. (referat)
28. **Hazubska-Przybył T.**, Ratajczak E., Obarska A., Pers-Kameczyc E. Oddziaływanie wybranych auksyn syntetycznych na poszczególne etapy rozwojowe somatycznych zarodków *Picea abies* i *P. omorika*. Drzewa i lasy w zmieniającym się środowisku. Instytut Dendrologii PAN. Kórnik-Poznań, 11-13.10.2021: 102-103. (referat)

KONFERENCJE MIĘDZYNARODOWE

Wystąpienia po uzyskaniu stopnia doktora

29. **Hazubska T.**, Bojarczuk K. Micropropagation of *Picea abies* (L.) Karst. and *P. omorika* (Pancić) Purk. by somatic embryogenesis. XII International Conference on Plant Embryology. Cracow, Poland, 05-07.09.2005. (poster)

Acta Biologica Cracoviensia series Botanica 47: 58-58.

30. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M., Bojarczuk K. Induction of embryogenic tissues of Serbian spruce (*Picea omorika*) and their maintenance in liquid nitrogen. TREEBREEDEX, Vegetative propagation & deployment of varieties – the scope for Europe. Liverpool, Great Britain, 21-23.04.2009. (poster)

31. **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K., Michalak M., Chmielarz P. Successful application of a vitrification method for cryopreservation of embryogenic tissues of Serbian spruce (*Picea omorika*). 4th Conference Working Group 1. COST Action 871. Poznań, Poland, 29-30.04.2010. (poster)

32. **Hazubska-Przybył T.**, Michalak M., Chmielarz P. Bojarczuk K. The use of the vitrification method for cryostorage of selected embryogenic lines of *Picea abies*. IV CHB Biotechnological advances in *in vitro* horticultural breeding. Ghent, Belgium, 18-22.09.2011: CR6. (referat)

33. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M., Dering M., Bojarczuk K. Cryopreservation of embryogenic tissues of selected spruce species after sucrose preculture and air desiccation, and genetic stability of the tissues. Integrating vegetative propagation, biotechnologies and genetic improvement for tree production and sustainable forest management. Brno, Czechy, 25-28.06.2012: S4-6P. (poster)

34. **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K., Chmielarz P., Michalak M. Somatic embryogenesis and cryopreservation of ornamental *Picea species*: modern methods of propagation and long-term store. Groening. G. (Ed.) Proceedings of the XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture For People. Proceedings of the International Symposium on Advances in Ornamentals, Landscape and Urban Horticulture. IHC 2010. Lisbon, Portugal, 22-27.08.2012. (poster)

Acta Horticulturae 937(2): 729-735.

35. Chmielarz P., Michalak M., Plitta B.P., **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K., Pałucka M., Wasileńczyk U. Cryopreservation of genetic resources of forest tree species. 2nd ISHS International symposium on plant cryopreservation. Fort Collins, US, 11-14.08.2013. (poster)

36. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M., Dering M., Bojarczuk K., Obarska A. Successful cryopreservation of embryogenic tissues of spruce (*Picea* spp.) by using the rapid-freezing method. 10th International Plant Cold Hardiness Seminar. Stress Recognition Triggers Plant Adaptation. Kórnik-Poznań, Poland, 17-21.08.2014: 51. (referat)
37. **Hazubska-Przybył T.**, Bojarczuk K., Obarska A. Ex situ conservation of forests trees (*Picea* and *Fagus* spp.) by using *in vitro* and cryopreservation techniques. International conference – *Ex situ* conservation of plants problems and solutions. Poznań, Poland, 09-13.09. 2015: 43. (poster)
38. Kotlarski Sz., Obarska A., **Hazubska-Przybył T.**, Kulagin D., Michalak M., Chmielarz P. Effects of *in vitro* culture conditions of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) on its shoot multiplication rate. XVI International Conference of Young Scientists. Forests of Eurasia. Kirgistan, 16-23.10.2016. (poster)
39. Salaj T., **Hazubska-Przybył T.**, Matúšová R., Klubicová K., Salaj J. Biological characterisation of *Pinus nigra* Arn. embryogenic tissues in liquid culture system. Dendrologické dni v Arboréte Mlyňany SAV 2016. Dreviny v meniacom sa prostredí. Arboretum Mlynany, Slovakia, 5.10.2016: 220-223. (poster)
40. Salaj T., **Hazubska-Przybył T.**, Klubicová K., Salaj J. Vegetative propagation of conifer tree species using *in vitro* techniques. Vliv abiotických a biotických stresoru na vlastnosti rostlin. Vedecká konferencia, Česká zemědělská universita v Praze. Ústav ekologie lesa SAV. Praha, Czech Republic, 12-14.09.2017: 153-156. (poster)
41. **Hazubska-Przybył T.**, Chmielarz P., Michalak M. *Picea omorika* as a relict woody plant propagated *in vitro* and stored in liquid nitrogen. International conference Relict woody plants: linking the past, present and future. Kórnik, Poland, 09.06.2018: 55. (poster)
8. Informacja o udziale w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.
1. 18th Cold Hardiness Seminar in Poland. Kórnik, 14-15.05.2013 - członek Komitetu Naukowego
2. 19th Cold Hardiness Seminar in Poland. Kórnik, 29-30.09.2015 - członek Komitetu Organizacyjnego
9. Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na

projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów.

I) PROJEKTY ZREALIZOWANE

A) Podczas trwania doktoratu

Kierowanie krajowym projektem badawczym - kierownik projektu

1. „Inicjacja kultur embriogennych i rozwój zarodków somatycznych wybranych gatunków świerków ozdobnych”.

Komitet Badań Naukowych; nr projektu: 6P06C 025 20; okres realizacji: 2001 r.

Udział w krajowych projektach badawczych - wykonawca projektu

2. „Rozwój klonów brzozy brodawkowatej i topoli szarej w kulturach ‘*in vitro*’ i ‘*ex vitro*’ w warunkach stresu spowodowanego skażeniem podłoża związkami chemicznymi”.

Komitet Badań Naukowych; nr projektu: 5P06M00512; okres realizacji: 1997-1999 r.

3. „Rozwój topoli i brzozy w warunkach *in vitro* i *in vivo* pod wpływem stresu spowodowanego przez jony toksycznych metali”.

Komitet Badań Naukowych; nr projektu: 6P06L04121; okres realizacji: 2001-2005 r.

4. „Mikrorozmnażanie wybranych gatunków świerków (*Picea abies*, *P. omorika*, *P. pungens* ‘*Glauca*’, *P. breweriana*) metodą somatycznej embriogenezy”.
Projekt badawczy promotorski.

Komitet Badań Naukowych; nr projektu: 3P06L 055 25; okres realizacji: 2003-2005 r.

B) Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Kierowanie krajowym projektem badawczym – kierownik projektu

1. „Somatyczna embriogeneza i kriokonserwacja kultur embriogennych *Picea abies* (L.) Karst. i *P. omorika* (Pancić) Purk. metodą witryfikacji”.

Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (przejęty przez Narodowe Centrum Nauki); nr projektu: NN 309 130 837; okres realizacji: 2009-2014 r.

Wykaz prac opublikowanych w ramach projektu

Hazubska-Przybył T., Chmielarz P., Michalak M., Bojarczuk K. 2010. Cryopreservation of embryogenic tissues of *Picea omorika* (Serbian spruce). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 102 (1): 35-44.

Hazubska-Przybył T., Chmielarz P., Michalak M., Dering M., Bojarczuk K. 2013. Survival and genetic stability of *Picea abies* embryogenic cultures after cryopreservation using a pregrowth-dehydration method. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 113 (2): 303-313.

Hazubska-Przybył T., Ratajczak E., Kalemba E., Bojarczuk K. 2013. Growth regulators and guaiacol peroxidase activity during the induction phase of somatic embryogenesis in *Picea* species. *Dendrobiology* 69: 77-86.

Hazubska-Przybył T., Kalemba E.M., Ratajczak E., Bojarczuk K. 2016. Effects of abscisic acid and osmoticum on the maturation, starch accumulation and germination of *Picea* spp. somatic embryos. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 59. [https://doi: 10.1007/s11738-016-2078-x](https://doi.org/10.1007/s11738-016-2078-x).

2. „Wykorzystanie metody somatycznej embriogenezy do wegetatywnego rozmnażania i długoterminowego przechowywania buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica* L.)”.

Narodowe Centrum Nauki; nr projektu: NN 309 705 240; okres realizacji 2011-2015 r.

Wykaz prac opublikowanych w ramach projektu

Hazubska-Przybył T., Chmielarz P., Bojarczuk K. 2015. *In vitro* responses of various explants of *Fagus sylvatica*. *Dendrobiology* 73: 135-144.

Hazubska-Przybył T., Bojarczuk K. 2016. Tree somatic embryogenesis in science and forestry. *Dendrobiology* 76: 105-116.

Udział w krajowych projektach badawczych - wykonawca projektu

3. „Wpływ grzybów mikoryzowych na proces aklimatyzacji sadzonek topoli i brzozy z kultur *in vitro*, w podłożach o różnym stopniu skażenia metalami ciężkimi”.

Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego; nr projektu: NN 309 296 534; okres realizacji: 2008-2011 r.

4. „Stabilność epigenetyczna nasion oraz tkanek roślin drzewiastych poddanych kriogenicznemu przechowaniu”.

Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (przejęty przez Narodowe Centrum Nauki); nr projektu: 0720/B/PO1/2009/36; okres realizacji: 2009-2012 r.

5. „Analiza wpływu ektomikoryz na tolerancję topoli *Populus x canescens* na ołów wykonana metodami proteomicznymi i metabolomicznymi”.

Narodowe Centrum Nauki; nr projektu: DEC-2011/03/D/NZ9/05500;
okres realizacji: 2012-2017 r.

6. „Zachowanie zasobów genowych zagrożonych i ginących gatunków metodami kriogenicznymi w leśnym banku genów (II etap) oraz ochrona zasobów genowych najstarszych drzew w Polsce, poprzez sklonowanie *in vitro* i kriokonserwację”.

Dyrekcja Generalna Lasów Państwowych; nr projektu: EO-2717-4/13;
okres realizacji: 2013-2017 r.

II) PROJEKTY REALIZOWANE

7. „Długoterminowe przechowywanie nasion dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.)”.

Dyrekcja Generalna Lasów Państwowych; nr projektu: EO.271.3.7.2018;
okres realizacji: 2018-2023 r.; wykonawca projektu.

10. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.

Brak

11. Informacja o odbytych stażach w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.

1. Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Genetyki i Fizjologii Drzew Leśnych i Pracownia Nasienna, Sękocin Stary, Polska, konsultacje naukowe (1999-2002; 4 tygodnie)
2. Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa, Laboratorium Kultur Tkankowych, Skierniewice, Polska, konsultacje naukowe (2001; 1 tydzień)
3. Uniwersytet Warszawski, Zakład Morfogenezy Roślin, Polska, konsultacje naukowe (2001; 3 dni)
4. Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Katedra Roślin Ozdobnych, Warszawa, Polska, konsultacje naukowe (2002; 2 dni)
5. Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Zakład Botaniki Ogólnej, Poznań, Polska, konsultacje naukowe (2003; 3 tygodnie)

6. Institute for Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Waldsieversdorf, Niemcy, konsultacje naukowe (2006; 1 tydzień)
7. INRA, UR 588 Jednostka badawcza zajmująca się hodowlą, genetyką i fizjologią drzew leśnych, Ardon koło Orleanu, Francja, konsultacje naukowe (2010; 1 tydzień)
8. Instytut Genetyki i Biotechnologii Roślin Słowackiej Akademii Nauk, Nitra, Słowacja, konsultacje naukowe dotyczące kriokonserwacji kultur embriogenicznych drzew iglastych oraz prezentacja wyników badań pt. „Zastosowanie metody dehydratacji w kriokonserwacji tkanek embriogennych świerka serbskiego” (2011; 1 tydzień)
9. Instytut Genetyki i Biotechnologii Roślin Słowackiej Akademii Nauk, Nitra, Słowacja, konsultacje naukowe dotyczące metod kriokonserwacji kultur embriogennych drzew gatunków iglastych (2012; 1 tydzień)
10. Instytut Genetyki i Biotechnologii Roślin Słowackiej Akademii Nauk, Nitra, Słowacja, realizacja polsko-słowackiego wspólnego projektu badawczego w latach 2013-2015. Tytuł projektu: „Kriokonserwacja kultur embriogennych cennych klonów gatunków drzew iglastych” (3 wizyty; 4 tygodnie).
11. Instytut Genetyki i Biotechnologii Roślin Słowackiej Akademii Nauk, Nitra, Słowacja, realizacja polsko-słowackiego wspólnego projektu badawczego na lata 2016-2018. Tytuł projektu: „Somatyczna embriogeneza wybranych gatunków drzew iglastych” (3 wizyty; 3 tygodnie).
12. Centrum Nauki o Roślinach i Bioróżnorodności SAN jednostka: Instytut Genetyki i Biotechnologii, Nitra, Słowacja, realizacja polsko-słowackiego wspólnego projektu badawczego na lata 2019-2022.
Tytuł projektu: „Badania proteomiczne nad procesem kriokonserwacji tkanek embriogennych *Pinus nigra* Arn.” (1 wizyta w 2019 r.; 1 tydzień).
12. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).
Brak
13. Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.

Wykonałam recenzje 25 prac naukowych w następujących czasopismach:

Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica (1), *Acta Physiologiae Plantarum* (6),
Agronomy (1), *Asian Journal of Agricultural and Horticultural Research* (1),

Dendrobiology (6), *Forests* (1), *HortScience* (1), *International Journal of Forest Research* (1), *International Journal of Molecular Sciences* (1), *Journal of Forest Research* (1), *Open Life Science* (2), *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* (1), *Plant Cell Tissue and Organ Culture* (1), *Plants* (1)

14. Informacja o uczestnictwie w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.

Brak

15. Informacja o udziale w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.

1. „Kriokonserwacja kultur embriogennych wartościowych klonów gatunków drzew iglastych”

Projekt realizowany na podstawie porozumienia o współpracy polsko-słowackiej w ramach Akademii Nauk na lata 2013-2015; nr projektu: 15.

2. „Somatyczna embriogeneza wybranych gatunków drzew iglastych”

Projekt realizowany na podstawie porozumienia o współpracy polsko-słowackiej w ramach Akademii Nauk na lata 2016-2018; nr projektu: 10.

3. „Analiza proteomiczna procesu kriokonserwacji tkanek embriogennych *Pinus nigra* Arn.”

Projekt realizowany na podstawie porozumienia o współpracy polsko-słowackiej w ramach Akademii Nauk na lata 2019-2022; nr projektu: 6.

16. Informacja o uczestnictwie w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.

Brak

III. INFORMACJA O WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego.

Brak

2. Informacja o współpracy z sektorem gospodarczym.

Udział w realizacji dwóch zadań badawczych, finansowanych przez Dyрекcję Generalną Lasów Państwowych, jako wykonawca:

„Zachowanie zasobów genowych zagrożonych i ginących gatunków metodami kriogenicznymi w leśnym banku genów (II etap) oraz ochrona zasobów genowych najstarszych drzew w Polsce, poprzez sklonowanie *in vitro* i kriokonserwację”.

nr projektu: EO-2717-4/13; okres realizacji 2013-2017 r.

„Długoterminowe przechowywanie nasion dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.)”.

nr projektu: EO.271.3.7.2018; okres realizacji: 2018-2023 r.

3. Uzyskane prawa własności przemysłowej, w tym uzyskane patenty, krajowe lub międzynarodowe.
Brak
4. Informacja o wdrożonych technologiach.
Brak
5. Informacja o wykonanych ekspertyzach lub innych opracowaniach wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.
Brak
6. Informacja o udziale w zespołach eksperckich lub konkursowych.
Brak
7. Informacja o projektach artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.
Brak

IV. INFORMACJE NAUKOMETRYCZNE

1. Informacja o punktacji Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny).
IF (wg roku publikacji) = 32,278 (wg bazy Web of Science Clarivate)
2. Informacja o liczbie cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.
168/132 (wg bazy Web of Science Clarivate)
3. Informacja o posiadanym indeksie Hirscha.
7
4. Informacja o liczbie punktów MEiN.
1800
(według wykazu czasopism naukowych MNiSW/MEiN zgodnie z rokiem publikacji)

Informacje zawarte w pkt. IV powinny wskazywać również na bazę danych, na podstawie której zostały podane.

Przy wyborze tej bazy należy zwracać uwagę na specyfikę dziedziny i dyscypliny naukowej, w której kandydat ubiega się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Rada Doskonałości Naukowej informuje, że podawanie danych naukometrycznych – w opinii Rady Doskonałości Naukowej – jest wskazane i zalecane, wynika to także ze stosowanej powszechnie praktyki przez samych kandydatów ubiegających się o awans naukowy. Należy jednak podkreślić, że podane we wnioskach o wszczęcie postępowania awansowego dane naukometryczne nie mogą stanowić kryterium oceny dorobku naukowego Kandydata dla podmiotów doktoryzujących, habilitujących oraz samej Rady Doskonałości Naukowej, organów prowadzących postępowania w sprawie nadania stopnia lub tytułu. Zadaniem tych organów jest przede wszystkim ocena ekspercka dorobku naukowego Kandydata ubiegającego się o awans naukowy, zaś decyzja o nadaniu stopnia lub tytułu nie powinna być uzależniona od podania tych danych.

.....
(podpis wnioskodawcy)

