

**Dr hab. Urszula Zajączkowska,
prof. SGGW**

Instytut Nauk Leśnych
Samodzielny Zakład Botaniki
Leśnej

Szkoła Główna Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie

ul. Nowoursynowska 159
02-776 Warszawa
+48 22 593 80 21
szbl@sggw.edu.pl
www.sggw.pl

Warszawa, 12.01.2023

Ocena

dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego

Pani Dr Teresy Hazubskiej-Przybył z Zakładu Biologii Rozwoju,

Instytutu Dendrologii Polskiej Akademii Nauk,

ubiegającej się o nadanie stopnia naukowego

doktora habilitowanego nauk rolniczych

w dyscyplinie nauki leśne

1. Podstawa opracowania opinii

Podstawą do niniejszej opinii jest pismo z dnia 21 listopada 2022 roku Pani Prof. dr hab. Doroty Hilszczańskiej, Sekretarz Rady Naukowej Instytutu Badawczego Leśnictwa, informujące o powołaniu mnie w dniu 29 września 2022 roku na recenzentkę dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego Pani Dr Teresy Hazubskiej-Przybył.

Recenzja została opracowana na podstawie dokumentacji przygotowanej przez Habilitantkę, dr Teresę Hazubską-Przybył, przesłanej mi za pośrednictwem Instytutu Badawczego Leśnictwa. Zawartość dokumentacji stanowią: Wniosek przewodni o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego, Dane wnioskodawcy (Zał. 1), Kopia dyplomu doktora (Zał. 2), Autoreferat zawierający szczegółowe informacje o osiągnięciu naukowym stanowiącym cykl 5 publikacji naukowych zebranych pod łącznym tytułem „Somatyczna

embriogeneza i kriokonserwacja kultur embriogennych *P. omorika* (Pančić) Purk. i *Picea abies* (L.) H.Karst. przy zastosowaniu metody stopniowej dehydratacji" (Załącznik 3), Wykaz osiągnięć naukowych (Załącznik 4), Kopie 5 artykułów naukowych (Załącznik 5), Kopie pozostałych artykułów i dokumentów (Załącznik 6) zawierający kopie 14 publikacji, Oświadczenia współautorów (Załącznik 7,) kopia wyróżnienia plakatu uzyskanego na konferencji naukowej w 2009 roku.

Recenzję przygotowałam zgodnie z wymogami zawartymi w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668, art. 221 ust. 8 i art. 219 ust. 1 pkt 2).

2. Sylwetka Habilitantki Pani Dr Teresy Hazubskiej-Przybył

Pani Dr Teresa Hazubska-Przybył jest absolwentką Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, gdzie w 1988 roku z wyróżnieniem obroniła pracę magisterską pt. „Stan roślinności fragmentu lewobrzeżnej doliny Warty przy północnym przedmieściu Puszczykowa”, napisaną pod opieką prof. dr hab. Janiny Borysiak. W okresie studiów uzyskała kwalifikacje pedagogiczne do nauki biologii przez uczestnictwo w Studium Pedagogicznym na swoim macierzystym uniwersytecie. W 1988 roku została zatrudniona w Instytucie Dendrologii PAN w Kórniku na stanowisku technika dokumentalisty w Pracowni Mnożenia Wegetatywnego, prowadzonej przez dr hab. Krystynę Bojarczuk, której wpływ odbił się wybitną inspiracją i wielkim zaangażowaniem w pracę naukową dotyczącą rozmnażania wegetatywnego roślin. Po trzech latach praktyk Habilitantka rozpoczęła studia doktoranckie, by w 2005 roku obronić doktorat pt. „Mikrorozmnażanie wybranych gatunków świerka (*Picea abies*, *P. omorika*, *P. pungens* ‘*Glauca*’, *P. breweriana*) metodą somatycznej embriogenezy”, napisany pod opieką prof. dr hab. Krystyny Bojarczuk. Chciałabym tu podkreślić fakt niezwyklej, jak na dzisiejsze czasy, szerokiej optyki badawczej - od pracy fitosocjologicznej podczas magisterium, przez udział w grantie oceniającym wpływ skażenia gleby metalami ciężkimi na rozwój części nadziemnej i korzeni brzozy, po obszar stricte biotechnologii obejmujący tematykę embriogenezy, który był podejmowany w doktoracie. Całość ta była z pewnością wynikiem pasji, zdolności i ogromnej pracy. Od 2006 roku po dziś Habilitantka jest zatrudniona w Instytucie Dendrologii PAN, obecnie jako adiunkt w Zakładzie Biologii Rozwoju pracując nad złożonymi i trudnymi aspektami optymalizacji procesów somatycznej embriogenezy świerka pospolitego i serbskiego oraz kriokonserwacji tkanek

embriogennych. Wartym uznania jest fakt, że geneza pracy naukowej Habilitantki jak i kontekst podejmowanej przez Nią tematyki od początku swej pracy badawczej wydaje się być głęboko osadzony w szerokim myśleniu o ochronie zasobów naturalnych, zwiększaniu produktywności roślin - całość jako odpowiedź na stale zwiększające się problemy środowiska i potrzeby ludzkości będącej w kryzysie zmian klimatycznych.

3. Ocena dorobku naukowo-badawczego

Swoje osiągnięcie habilitacyjne Kandydatka określiła tytułem „Somatyczna embriogeneza i kriokonserwacja kultur embriogennych *P. omorika* (Pančić) Purk. i *Picea abies* (L.) H.Karst. przy zastosowaniu metody stopniowej dehydratacji” i zawarła je w cyklu pięciu artykułów naukowych o charakterze badawczym opublikowanych w latach 2010-2020 o sumarycznym współczynniku oddziaływania IF= 11,7 i sumie punktów MEiN równej 510. We wszystkich publikacjach Doktor Hazubska-Przybył występuje jako pierwsza autorka.

Cykl wybranych publikacji obejmuje prace:

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.
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>.
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:10.1007/s11738-016-2078-x).
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.

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.

Przedstawione w tych publikacjach wyniki wieloletnich badań i poszukiwań Habilitantki orbitują wokół licznych problemów z jakimi mierzą się badacze na świecie, zajmujący się rozmnażaniem wegetatywnym drzew. Chciałabym podkreślić, że tego typu działania są zdecydowanie trudniejsze u roślin drzewiastych niż u zielnych, czego dowodem jest, że pierwsze sukcesy z mikrorozmnażaniem drzew osiągnięto dopiero w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku u topoli osiki, a do tej pory wciąż nie udaje się tego osiągnąć na wielu innych gatunkach drzew, szczególnie iglastych. Pomyślność wzrostu kultur *in vitro* jest bowiem uwarunkowana szerokim spektrum czynników fizycznych i biochemicznych, których subtelne zmiany są przypisane do wymagań konkretnych gatunków czy odmian. Aby rozkodować te wymagania i móc z powodzeniem zaimplementować je w procedury rozmnażania w sztucznych warunkach, wymagana jest żmudna i długa praca, głębokie doświadczenie w temacie, znajomość wysublimowanych technik i precyzyjne oko badacza/badaczki. Dopiero taki, nieosiągalny często dla wielu, zestaw cech sprawia, że mikrorozmnażanie somatyczne drzew udaje się pogłębić i wpisać w praktykę, do której Habilitantka bardzo często się odnosi w swych pracach, podając przykłady istniejących plantacji opartych na rozmnażaniu klonalnym drzew dostosowanych do warunków środowiska, czy też kiedy myśli o zachowywaniu genomu cennych gatunków drzew za pomocą metody krioprzechowywania kultur, którą uznaje za metodę wspomagającą istotę rozmnażania drzew metodą somatycznej embriogenezy.

Na tym tle, niżej przytoczony cel badań składających się na osiągnięcie naukowe Pani Dr Teresy Hazubskiej-Przybył jest bardzo ambitny i niezwykle ważny dla pola światowej nauki:

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.

Zmiany morfogenetyczne w kulturach in vitro ściśle zależne są od proporcji regulatorów wzrostu, z czego najważniejszą relacją uznaje się: "auksyny-cytokininy". Obecność endo- lub egzogennej auksyny jest niezbędna dla przebiegu licznych podziałów komórkowych w kalusie. Cytokininy przyspieszają ten proces. Dodatkowo relacja ta ma swoją pochodną także w procesie dojrzewania, kiełkowania i konwersji zarodków w somatyczne siewki.

Habilitantka odkryła, że *Picea abies* uzyskała najwyższą częstotliwość indukcji tkanki embriogenicznej w pożywce kombinacji Pikloramu i BA w stężeniach 9 i 4,5 μM . Natomiast w przypadku *P. omorika* pod wpływem 2,4-D, i BA, w stężeniach odpowiednio 9 μM i 8.8 μM . W pracach zasugerowano, że mimo iż Pikloram jest znacznie rzadziej stosowany się do zaindukowania somatycznej embriogenezy u gatunków drzew iglastych, w przypadku *P. abies* to właśnie ten związek z grupy auksyn wykazuje efektywniejsze działanie na eksplantaty świerka.

Istotnym są także obserwacje u *P. omorika*, pokazujące, że niezależnie od rodzaju zastosowanej auksyny, namnażanie tkanki embriogenicznej wymagało niemal dwukrotnie mniejszego stężenia cytokininy (do wartości 2,2 μM) w porównaniu do *P. abies*. Dodatkowo po raz pierwszy odnotowano, że zastosowane egzogenne auksyny znacząco wpływały na rozwój hipokotyli i korzonka zarodkowego u obu gatunków świerka podczas kiełkowania somatycznych zarodków.

W przedstawionych do oceny badaniach nad embriogenezą somatyczną świerków niezwykle istotnym wydaje się odkrycie nowych, pewnych biochemicznych markerów procesów indukcji i namnażania tkanek embriogenicznych. Habilitantka poszukiwała ich w grupie peroksydaz, czyli bardzo specyficznej grupie związków o szerokim spektrum działania, będących dziś przedmiotem zainteresowań badaczy rozmaitych dziedzin z zakresu nauk biologicznych. Peroksydazy, należące do klasy oksydoreduktaz, katalizują reakcje utlenienia związków organicznych, w których akceptorem (elektronu) jest głównie nadtlenek wodoru (H_2O_2), redukowany w tym procesie do wody.

Peroksydaza gwajakolowa zlokalizowana jest w ścianie komórkowej, cytozolu czy w wakuoli. Odznacza się działaniem antyoksydacyjnym, stanowi ważny element procesów lignifikacji, obrony przed patogenami, jednak do tej pory jej aktywność nie była uwzględniana, w badaniach nad biochemicznymi uwarunkowaniami somatycznej embriogenezy u gatunków drzew iglastych.

Habilitantka udowodniła, że aktywność peroksydazy gwajakolowej jest zmienna w trakcie indukcji kultur embriogennych zarówno świerka pospolitego jak i serbskiego, co daje nadzieję na zastosowanie jej jako nowego markera somatycznej embriogenezy badanych świerków.

Dalszy wzrost i procesy dojrzewania somatycznych zarodków w warunkach laboratoryjnych umożliwia stworzenie niezwykle precyzyjnych warunków fizyko-chemicznych, które zaindukują kaskady zdarzeń komórkowych, prowadzących do prawidłowego rozwoju zarodków. Nie dziwi więc, że wszystkie czynniki wpływające na ciśnienie osmotyczne pożywki, dostęp do wody będą tu kluczowe nie tylko w początkowych fazach kiełkowania, ale i podczas wzrostu hipokotyle i korzonka siewek. Dr Hazubska-Przybył zajmowała się też i tą problematyką badając rozmaite stężenia ABA, sacharozy czy Phytagelu w procesach dojrzewania zarodków, jak i akumulacji w ich tkankach skrobi, by ostatecznie odnaleźć ich optima (różne dla studiowanych dwóch gatunków świerków), które są niezbędne dla powodzenia hodowli siewek.

Wszystkie przytoczone procedury działań w ramach mikrorozmnażania drzew leśnych mają szansę być jedną z dodatkowych dróg w kierunku rozmnażania gatunków zagrożonych wyginięciem, albo tych, które wykazują szereg pożądanych cech hodowlanych, lecz występują w bardzo małej ilości jako materiał mateczny, albo też takich, których nasiona nie nadają się do dłuższego przechowywania. Tym bardziej wyjątkowo ważne, jako równoległe do somatycznej embriogenezy działanie, jest rozwijanie metody krioprechowrywania materiału roślinnego (ich genomu), czyli przechowywanie ich temperaturze ciekłego azotu (-196° C), szczególnie, że tkanki embriogenetyczne nie są trwałe, ulegają zmianom i odznaczają się wysokim ryzykiem występowania zmian somaklonalnych. Krioprechowrywanie tkanek jest procedurą trudną, niesie bowiem ryzyko zniszczenia i utraty materiału genetycznego, dlatego Habilitantka opracowała innowacyjną metodę stopniowego odwadniania materiału roślinnego, przed umieszczeniem go w ciekłym azocie. Proces odwadniania opiera się na ciągu coraz większych stężeń sacharozy, które zmieniają potencjał osmotyczny tkanek. Po dosuszeniu materiału do poziomu 20%, tkanki umieszczane są w ciekłym azocie. Rozmrażanie i nawadnianie tkanek przez ciąg malejących stężeń sacharozy dawało niemal 100% przeżywalności tkanek, co jest doskonałym wynikiem jak na metodę kriokonserwacji. Zastosowanie analizy mikrosatelitarnych sekwencji (SSR), badającej stabilność genetyczną materiału roślinnego, uzyskanego w wyniku rozmnażania wegetatywnego, umożliwiło wskazanie mutacji, które są częste w rozmnażaniu in vitro. Przeprowadzone badania wykazały, że metoda opracowana przez Dr Teresę Hazubską-Przybył nie powodowała, by charakter genetyczny

tkanki embriogennej świerka pospolitego po rozmnożeniu z ciekłego azotu uległ zmianie. Dodatkowo wyniki nie wykazały też jakichkolwiek różnic pomiędzy genomowym DNA, pochodzącym z niekriokonserwowanej i z kriokonserwowanej tkanki i z somatycznych zarodków. Wyniki podlegały dyskusjom i recenzjom w postaci dwóch publikacji naukowych jak i podczas 17 konferencji naukowych, z czego 9 to konferencje międzynarodowe.

Oceniając dorobek naukowy Habilitantki, znajdujący się w obszarze zainteresowań wegetatywnego rozmnażania drzew i możliwości zastosowania ich w leśnictwie, chciałabym zaznaczyć, że problematyka ta w dalszym od szeregu lat stanowi przedmiot licznych naukowych dyskusji i kontrowersji, dotyczących m.in. różnych aspektów różnorodności biologicznej oraz przewidywanych zmian klimatycznych. Chcę jednak podkreślić, że Kandydatka w pełni zdaje sobie sprawę ze złożoności tego problemu, co znajduje zresztą odzwierciedlenie w treści przygotowanego przez nią autoreferatu.

Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego stwierdzam, że wartości merytoryczna, opierająca się na istotnych i oryginalnych odkryciach bezpośrednio wpływających na stan wiedzy w zasięgu światowym i stanowi poważny wkład w rozwój dyscypliny nauk leśnych. Uważam, że w pełni spełnia kryteria stawiane dla uzyskania stopnia doktora habilitowanego w ramach ustawy o stopniach i tytule naukowym.

4. Pozostała działalność naukowa, popularyzacyjna naukę

Pani Dr Teresa Hazubska-Przybył po osiągnięciu stopnia doktora kontynuowała pracę naukową orbitującą wokół swego pierwotnego zainteresowania badawczego, w tym raz jako kierowniczka projektu NCN. To co wydaje mi się ważne, to fakt, że Pani Doktor uczestniczyła też jako wykonawczynie w czterech innych projektach, przy czym dwa z nich należą do tematyki z zakresu wpływu mikoryzowania topól na skażenie gleb. Wyniki tych badań mają znaczenie również aplikacyjne, ponieważ jednoznacznie wskazały zasadność mikoryzowania drzew, które mogą być wykorzystane do rekultywacji zniszczonego metalami ciężkimi środowiska. Dotychczasowy dorobek publikacyjny Habilitantki wynosi 19 pozycji, o łącznym IF 32,3, i z 1700 punktami MEIN, przy 25 wystąpieniach na konferencjach krajowych i 13 na konferencjach międzynarodowych. Oceniając dotychczasową działalność naukową Habilitantki, nie wchodzącą bezpośrednio w zakres

tw. „osiągnięcia naukowego”, uważam, że również w tym obszarze Kandydatka wyróżnia się znaczącymi osiągnięciami, a jej dorobek stanowi poważny wkład w rozwój dyscypliny nauki leśnej.

Nie ulega jednak wątpliwości, że Pani Dr Teresa Hazubska-Przybył ma niezwykle cenne we współczesnym świecie osiągnięcia na **polu popularyzacji** wiedzy. Obecny kryzys nauki i etosu naukowca podlega coraz szerszej debacie publicznej, obejmującej obszary humanistyki jak i nauk przyrodniczych. Jednym z ważniejszych problemów do rozwiązania jest zamykanie się nauki przed społeczeństwem, co obserwuje się w ogromnym spadku uczestnictwa naukowców w popularyzacji swej wiedzy, przez niepisanie tekstów przyjaznych językowo, a głównie naukowych. Wartym jest więc szczególnego docenienia działania popularyzatorskie Pani Doktor, które jak sądzę, po przestudiowaniu osiągnięć w tej przestrzeni, są wykonywane z równą pasją jak praca naukowa. Poza ukończonym Studium Pedagogicznym, dającym kwalifikacje do nauki biologii, Habilitantka przeszła też Kurs Przygotowawczy dla Kandydatów na Wychowawców Placówek Wypoczynku dla Dzieci i Młodzieży. W dobie ogromnego deficytu i kryzysu na płaszczyźnie edukacji i popularyzacji najwyższej jakości nauki, w czasie ewaluacji pracy naukowca niemal jedynie przez pryzmat jego naukowych punktów, te umiejętności są niezwykle dziś rzadkie i cenne, dlatego chciałabym je tu szczególnie wyróżnić jako niezbędne dla budowania nowej optyki na naukę i kształtowania świadomego i mądrego społeczeństwa.

5. Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Mimo, że Pani Doktor Teresa Hazubska-Przybył jest zatrudniona w Instytucie statutowo nie prowadzącym zajęć dydaktycznych, to jednak w międzyczasie swej pracy badawczej, angażuje się w rozmaite aktywności dydaktyczne np. prowadziła zajęcia na studiach magisterskich kierunku Biotechnologia Wydziału Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego (2015-2017). Była też opiekunką dwóch prac magisterskich, praktykantek czy doktorantki. Ważnym podkreślenia jest organizacja rozmaitych lekcji pokazowych, szkoleń czy prezentacji laboratorium kultur *in vitro* swej macierzystej jednostki.

W ramach osiągnięć organizacyjnych Doktor brała udział m.in. w przygotowywaniu dwóch Seminariów, organizacji „Dni azalii i różaneczników” Arboretum Kórnickiego, prowadzeniu kilku seminariów Instytutu Dendrologii PAN, a także na wielu płaszczyznach prac związanych z funkcjonowaniem laboratorium kultur *in vitro*.

6. Wniosek końcowy

Na podstawie przedłożonej mi dokumentacji, dotyczącej dorobku naukowego Dr Teresy Hazubskiej-Przybył stwierdzam, że osiągnięcie naukowe Habilitantki, przedstawione w cyklu pięciu publikacji, zatytułowane: „Somatyczna embriogeneza i kriokonserwacja kultur embriogennych *P. omorika* (Pančič) Purk. i *Picea abies* (L.) H.Karst. przy zastosowaniu metody stopniowej dehydratacji”, stanowi poważny i oryginalny wkład w rozwój dyscypliny nauk leśnych. Uważam, że ten cykl publikacji w pełni spełnia wymogi stawiane osobom ubiegającym się o stopień naukowy doktora habilitowanego. Pozytywnie oceniam bieżącą aktywność naukową, a także aktywność dydaktyczną i organizacyjną.

Rekomenduję zatem Radzie Naukowej Instytutu Badawczego Leśnictwa poparcie wniosku w sprawie nadania Dr Teresie Hazubskiej-Przybył stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie nauki leśne.



Dr hab. Urszula Zająchkowska, prof. SGGW