

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

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Dominiki Andrys
pt.:” Kultury *in vitro* lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia* Mill.)
i ich wykorzystanie do pozyskiwania metabolitów wtórnych”
wykonanej w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
pod kierunkiem dr hab. inż. Danuty Kulpa

Metody kultur *in vitro* odgrywają kluczową rolę w wielu dyscyplinach nauk przyrodniczych, m.in. w rolnictwie, ogrodnictwie, leśnictwie, hodowli i biotechnologii roślin. Kultury roślinne *in vitro* mają szerokie zastosowanie w rozmnażaniu cennych gatunków i odmian, w uzyskiwaniu roślin pozbawionych patogenów oraz roślin o pożądanym i wyselekcjonowanym cechach, a także w pozyskiwaniu metabolitów wtórnych. Metabolity wtórne są to substancje biologicznie czynne zawarte w roślinach, które nie występują w nich powszechnie i nie odgrywają większej roli w metabolizmie podstawowym. Ich funkcje w samych roślinach są różnorodne: obrona przed patogenami lub roślinożercami, hamowanie wzrostu innych gatunków roślin, sygnał dla owadów, a nawet regulacja ekspresji genów. Tradycyjnym źródłem pozyskiwania tych związków są rośliny z uprawy polowej, jednak w warunkach naturalnych biosynteza metabolitów wtórnych przebiega powoli i na ogół jest mało wydajna. Stąd zastosowanie kultur *in vitro* do ich produkcji jest wysoce uzasadnione. Ich główną zaletą jest: uniezależnienie od warunków środowiskowych (klimat, gleba, choroby i szkodniki) i możliwość ciągłej produkcji wysokiej jakości surowca. Ponadto współczesna biotechnologia dysponuje licznymi sposobami umożliwiającymi zwiększenie produkcji metabolitów wtórnych. Bodźcem do ich syntezy są m.in. elicytory - czynniki powodujące aktywację odpowiedzi rośliny na zewnętrzny czynnik stresowy.

Praca doktorska mgr inż. Dominiki Andrys dotyczy bardzo ważnego i aktualnego zagadnienia, mieszczącego się w głównym nurcie badań obejmujących endogenną produkcję w kulturach *in vitro* związków pochodzenia roślinnego, o wysokiej aktywności biologicznej. W pracy określono skład chemiczny olejków eterycznych uzyskanych z roślin lawendy wąskolistnej uprawianych w warunkach polowych oraz w kulturach *in vitro*. Zbadano również wpływ warunków uprawy na aktywność antyoksydacyjną suszu i antymikrobiologiczną olejków eterycznych, a także budowę trichomów wydzielniczych, w których produkowane są olejki eteryczne. Na uznanie zasługuje przeprowadzona przez Doktorantkę szczegółowa ocena wpływu substancji stresogennej - kwasu jasmonowego, dodanego do pożywki w kulturze *in vitro*, na wzrost i rozwój roślin lawendy, skład chemiczny olejków eterycznych, oraz ich aktywność biologiczną. Wysoce uzasadnione było sprawdzenie właściwości konserwujących lawendowych olejków eterycznych izolowanych z roślin uzyskanych *in vitro*.

Dobór materiału badawczego, gatunku lawenda wąskolistna (*Lavandula angustifolia* Mill.), jest bardzo trafny. Wybór takiego materiału badawczego podyktowany był z pewnością przede wszystkim właściwościami leczniczymi tego gatunku. Produktem metabolizmu wtórnego tych roślin są olejki eteryczne decydujące o właściwościach przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych, przeciwutleniających, immunostymulujących, spazmolitycznych wykorzystywane przy zapaleniach jamy ustnej i gardła oraz zakażeniach górnych dróg oddechowych. Działają również uspokajająco, nasennie i przeciwlękowo. Lawenda wąskolistna to także cenna roślina ozdobna o szerokim zastosowaniu w terenach zieleni: balkony, murki, obwódki rabat, pojemniki, skalniaki, żywopłoty oraz jako kwiat cięty.

Przedstawiona do recenzji praca ma formę zbioru 5 spójnych tematycznie artykułów naukowych, spośród których 4 zostały opublikowane a 1 jest w druku, w czasopismach ujętych w wykazie czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego z roku 2017. Jest to zgodne z nowelizacją ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki” z dnia 18 marca 2011 roku (art.13, ust. 2). Prace zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach anglojęzycznych posiadających współczynnik wpływu Impact Factor. Jedna praca jest opublikowana w Acta Chromatographica (IF-0,755), dwie prace - w Natural Product Research (IF-1,828), jedna praca – w Folia Horticulturae (IF-0,359). Jedna praca jest w druku w Folia Horticulturae (praca przyjęta do druku – zaświadczenie Redaktora Naczelnego z dnia 26.09.2017 r.). Łączna wartość IF wynosi 5,129 a liczba punktów według listy MNiSW z dnia 26.01.2017 r. wynosi 83. Wszystkie prace są opracowaniami zbiorowymi, w których

Doktorantka jest pierwszym autorem a Jej wkład, w każdej pracy, został określony jako 51%, co zostało potwierdzone załączonymi oświadczeniami współautorów.

Pierwsza praca z cyklu pt. „***In vitro* propagation affects the composition of narrow-leaved lavender essential oils**” przedstawia wyniki badań, których przedmiotem była analiza składu chemicznego olejków eterycznych izolowanych z trzech odmian lawendy wąskolistnej Ellagance Purple, Blue River, Munstead, uprawianych w warunkach polowych a także namnożonych w kulturach *in vitro* na pożywce Murashige i Skooga (MS) z dodatkiem 2 mg dm⁻³ kinetyny (KIN) i 0,2 mg dm⁻³ kwasu indolilo-3-octowego (IAA).

Druga praca z cyklu zatytułowana: „**Antioxidant and antimicrobial activities of *Lavandula angustifolia* Mill. field-grown and propagated *in vitro***” dotyczy oceny wpływu cytokinin: BA, 2iP, KIN (0,5-5 mg dm⁻³) na wzrost i namnażanie pędów a także IBA w stężeniu 0,05-1,75 mg dm⁻³ i składu mineralnego (1/4, 1/2, 1 MS) w obecności 0,2 mg dm⁻³ IBA lub NAA na ukorzenianie trzech odmian lawendy wąskolistnej: Ellagance Purple, Blue River, Munstead. Określono również morfologię trichomów wydzielniczych, w których produkowane są olejki eteryczne i zbadano aktywność antyoksydacyjną suszu i aktywność antymikrobiologiczną olejków eterycznych uzyskanych z roślin uprawianych w różnych warunkach (polowe, kultury *in vitro*).

Trzecia praca składająca się na rozprawę pt. „**Jasmonic acid changes the composition of essential oil isolated from narrow-leaved lavender propagated in *in vitro* cultures**” zawiera wyniki badań nad wpływem kwasu jasmonowego (JA) dodanego do pożywki MS w stężeniu 0; 0,2; 0,5; 1; 1,5 mg dm⁻³ na skład olejków eterycznych izolowanych z roślin lawendy wąskolistnej ‘Munstead’ namnożonych *in vitro*.

W czwartej pracy pt. „**Influence of jasmonic acid on the growth, antimicrobial and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* Mill. propagated *in vitro***” zbadano wpływ kwasu jasmonowego w stężeniu 0; 0,2; 0,5; 1; 1,5 mg dm⁻³ na wzrost i namnażanie lawendy wąskolistnej ‘Munstead’ w kulturach *in vitro*. Ponadto przeprowadzono obserwacje morfologii trichomów wydzielniczych, określono aktywność antyoksydacyjną suszu roślin i zawartość polifenoli oraz przebadano olejki eteryczne pod kątem ich aktywności mikrobiologicznej.

Piąta praca z cyklu pt. „**Essential oil obtained from micropropagated lavender, its effect on HSF cells and application in cosmetic emulsion as natural protective substance**” zawiera wyniki badań nad wpływem olejku eterycznego izolowanego z lawendy wąskolistnej ‘Munstead’ kultywowanej *in vitro* na pożywce MS z dodatkiem 2 mg dm⁻³ kinetyny, 0,2 mg dm⁻³ kwasu indolilo-3-octowego oraz 0,2 mg dm⁻³ kwasu jasmonowego na stabilność emulsji

kosmetycznej. Zbadano również wpływ olejków eterycznych uzyskanych z roślin lawendy uprawianej w polu i namnożonej *in vitro* na syntezę prokolagenu I w kulturach fibroblastów.

Oceniając merytoryczną wartość publikacji stanowiących rozprawę, należy stwierdzić, że stanowią one spójny zbiór, ściśle się ze sobą zazębiają i tworzą logiczną całość. Temat rozprawy jest zgodny z treścią przedstawionych prac. Doktorantka uzyskała szereg interesujących wyników mających zastosowanie praktyczne.

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

Praca doktorska mgr inż. Dominiki Andrys, zawierająca w/w cykl publikacji, ma formę syntetycznego opracowania, w którym na 19 stronach, w 8 rozdziałach, przedstawiono: 1. Wstęp 2. Cel badań 3. Omówienie wyników badań przedstawionych w publikacjach (są tutaj dołączone oświadczenia współautorów określające charakter wkładu i procentowy udział współautorów i Doktorantki w powstaniu publikacji) 4. Wnioski 5. Literatura 6. Streszczenie 7. Abstract 8. Wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy. Do rozprawy włączono kopie artykułów oraz dołączono wykaz osiągnięć w pracy naukowo-badawczej Doktorantki a także Zaświadczenie Redaktora Naczelnego Folia Horticulturae o przyjęciu publikacji czwartej do druku.

„Wstęp” liczący 2 strony napisany został poprawnie. W oparciu o dobrze dobrane piśmiennictwo, Autorka umiejętnie wprowadza czytelnika w poruszaną problematykę.

„Cel badań” został dobrze sformułowany a kierunki badań stanowią logiczny ciąg.

W rozdziale „Omówienie wyników badań przedstawionych w publikacjach” Doktorantka w formie bardzo syntetycznej przedstawia metodykę i wyniki badań zawarte w poszczególnych pracach. Szczegółowy opis materiału i metodyki prowadzonych badań, jak też uzyskane wyniki oraz dyskusję zawarto w publikacjach stanowiących rozprawę doktorską.

W rozdziale „Wnioski” Autorka zawarła 7 wniosków wynikających z przeprowadzonych badań. Są one poprawnie sformułowane i w pełni uzasadnione.

„Literatura” zawiera 26 pozycji dobrze dobranego piśmiennictwa zagranicznego (nie uwzględniając w tej liczbie piśmiennictwa w publikacjach wchodzących w skład rozprawy).

Opracowanie kończy „Streszczenie” w języku polskim i „Abstract” w języku angielskim. Doktorantka zawarła w nich syntetyczne podsumowanie zagadnień omawianych w rozprawie oraz wnioski z przeprowadzonych badań.

Podsumowując część opisową pracy stwierdzam, że jest to opracowanie syntetyczne, przygotowane starannie.

Z obowiązku recenzenta pozwalam sobie wskazać na pewne niedociągnięcia zauważone w trakcie czytania niniejszego opracowania. Pojawiły się zwroty potoczne, których Doktorantka powinna unikać w dalszej części pracy naukowej i publikacyjnej, takie jak: „zastosowanie wyższych stężeń JA znacząco wpłynęło na obniżenie wysokości pędów,...zaobserwowano również obniżenie masy namnożonych roślin” – str. 9, „namnażanie lawendy w kulturach *in vitro* wpływa na zmniejszenie średnicy trichomów” - str. 12. Przedstawione uwagi nie umniejszają wartości recenzowanej rozprawy, nie mają wpływu na jej ocenę i nie umniejszają istotnych osiągnięć pracy.

Cały dorobek naukowy Doktorantki obejmuje 5 oryginalnych prac badawczych wchodzących w zakres rozprawy oraz 1 artykuł w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, 1 artykuł w czasopiśmie na liście B, 6 artykułów w recenzowanych materiałach zjazdowych, 3 patenty, 12 streszczeń w materiałach konferencyjnych i 29 artykułów popularnonaukowych (łącznie punktacja – 224 a IF – 5,906, index Hirscha - 2, liczba cytowań - 4). Doktorantka ponadto uczestniczyła w 10 konferencjach krajowych, odbyła 10 staży krajowych i 4 staże zagraniczne, brała udział w 2 grantach badawczych, 2 programach mentoringowych i 24 szkoleniach, kursach lub seminariach, otrzymała 4 stypendia krajowe i 1 zagraniczne, pracowała na stanowisku Kierownika Laboratorium *In Vitro* 2 lata i była redaktorem artykułów anglojęzycznych na temat kosmologii i chemii kosmetycznej. Biorąc pod uwagę młody wiek Doktorantki jest to dorobek imponujący i budzi ogromne uznanie i szacunek dla Jej osoby.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Dominiki Andrys to bardzo interesujące i wartościowe opracowanie naukowe. Doktorantka wykonała pracochłonne badania, na wysokim poziomie naukowym. Materiał badawczy został wnikliwie i rzetelnie opracowany. Uzyskane wyniki mają charakter nowatorski, poznawczy, a co najważniejsze duży potencjał aplikacyjny. W chwili obecnej do konserwacji kosmetyków i przedłużenia ich trwałości poszukiwane są naturalne substancje posiadające właściwości ograniczające namnażanie drobnoustrojów. Prezentowane w pracy wyniki wskazują, że emulsja kosmetyczna z dodatkiem olejku eterycznego (0,1%) otrzymanego z lawendy wąskolistnej ‘Munstead’, namnożonej w kulturze *in vitro* na pożywce Murashige i Skooga uzupełnionej 2 mg dm⁻³ kinetyny, 0,2 mg dm⁻³ kwasu indolilo-3-octowego oraz 0,2 mg dm⁻³ kwasu jasmonowego, jest stabilna pod względem zapachu i koloru a także jest zabezpieczona przed rozwojem mikroorganizmów przez okres 3 miesięcy od jej sporządzenia. Olejek eteryczny, pozyskany z tkanek roślinnych

lawendy wąskolistnej namnożonych w kulturach *in vitro*, może być z powodzeniem wykorzystany w produkcji kosmetyków, stanowiąc zamiennik dla sztucznych środków konserwujących, często drażniących i uczulających.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Dominiki Andrys, stanowiąca spójny tematycznie cykl 5 publikacji naukowych, pod wspólnym tytułem **” Kultury *in vitro* lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia* Mill.) i ich wykorzystanie do pozyskiwania metabolitów wtórnych”** spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, określone w artykule 13 Ustawy (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) oraz Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 roku w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2011, Nr 204, poz. 1200) i wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie mgr inż. Dominiki Andrys do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na kompleksowość przeprowadzonych badań, wartościowe wyniki oraz publikację w międzynarodowych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania – wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Lublin, 09.11.2017r.

Prof. dr hab. Danuta Kozak

Dziekanat Wydziału Kształtowania
Środowiska i Rolnictwa

Wpłynęło dnia 10.11.2017 r.

WKS 12/19/190/736/2017