

Dr inż. Marzena Parzymies  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu  
Instytut Produkcji Ogrodniczej  
Zakład Roślin Ozdobnych i Dendrologii

Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin  
za pośrednictwem:  
**Rady Doskonałości Naukowej**  
pl. Defilad 1  
00-901 Warszawa  
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

## **Wniosek**

z dnia 01.09.2023 r.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo<sup>1</sup>.

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

### **„Wykorzystanie kultur tkankowych do rozmnażania rzadkich gatunków roślin terenów mokradłowych Polski wschodniej”**

Wniosuję – 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<sup>\*2</sup>

*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](mailto: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 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 przeprowadzenie 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*

---

<sup>1</sup> 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).

<sup>2</sup> \* Niepotrzebne skreślić.

*Martyna Parzymies*  
.....  
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

1. Dane wnioskodawcy (załącznik nr 1)
2. Kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora (załącznik nr 2)
3. Autoreferat (załącznik nr 3)
4. Wykaz osiągnięć naukowych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny (załącznik nr 4)
5. Kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (załącznik nr 5)
6. Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie prac stanowiących osiągnięcie naukowe (załącznik nr 6)
7. Kopie najważniejszych publikacji niewchodzących w skład cyklu wykazanego osiągnięcia naukowego (załącznik nr 7a) oraz powstałych w wyniku prowadzenia badań w więcej niż jednej jednostce (załącznik nr 7b)
8. Kopie dokumentów potwierdzających posiadane dyplomy oraz prac w więcej niż jednej jednostce naukowej (załącznik nr 8)

## **AUTOREFERAT NAUKOWY**

**DR INŻ. MARZENA PARZYMIES**

ZAKŁAD ROŚLIN OZDOBNYCH I DENDROLOGII

INSTYTUT PRODUKCJI OGRODNICZEJ

WYDZIAŁ OGRODNICTWA I ARCHITEKTURY KRAJOBRAZU

UNIwersytet Przyrodniczy w Lublinie

**LUBLIN 2023**

## Spis treści

|                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. IMIĘ I NAZWISKO                                                                                                                                                                                                                                | 2  |
| 2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE                                                                                                                                                                                             | 2  |
| 3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH                                                                                                                                                             | 2  |
| 4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. 2016 R. POZ. 882 ZE ZM. W DZ. U. Z 2016 R. POZ. 1311) | 3  |
| 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego                                                                                                                                                                                                                  | 3  |
| 4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego                                                                                                                                                                                           | 3  |
| 4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania                                                                                                                                    | 5  |
| 4.4. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH                                                                                                                                                                                         | 27 |
| 5. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ                                                    | 35 |
| 6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ                                                                                                                                               | 37 |
| 7. INNE INFORMACJE DOTYCZĄCE KARIERY ZAWODOWEJ                                                                                                                                                                                                    | 48 |
| Tabelaryczne zestawienie osiągnięć i realizowanych badań w pracy naukowo-badawczej                                                                                                                                                                | 51 |

1. **IMIĘ I NAZWISKO:** Marzena Parzymies

2. **POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE:**

**2003 Tytuł zawodowy magistra inżyniera**, Wydział Ogrodniczy (obecnie Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu), Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)

Tytuł pracy magisterskiej: „**Wpływ pożywki dwufazowej na ukorzenianie *Weigela florida* ‘Bristol Ruby’**” - praca wykonana w Katedrze Roślin Ozdobnych, promotor: dr Marek Dąbski;

**2003 Certificate of Proficiency in English** (Council of Europe Level C2), University of Cambridge ESOL Examinations;

**2004 Dyplom ukończenia studiów podyplomowych** „Pedagogika i metodyka nauczania języka angielskiego”, Olympus Szkoła Wyższa im. Romualda Kudlińskiego w Warszawie;

**2008 Stopień naukowy doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa, specjalność rośliny ozdobne** - Wydział Ogrodniczy (obecnie Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu), Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Tytuł pracy: „**Rozmnażanie powojnika (*Clematis* sp.) *in vitro***” – praca wykonana w Instytucie Roślin Ozdobnych i Architektury Krajobrazu, promotor: dr hab. Marek Dąbski;

**2018 Dyplom potwierdzający kwalifikacje w zawodzie Florysta (RL.26)** – Centralna Komisja Egzaminacyjna w Krakowie.

3. **INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH:**

Od 1 października 2011 – do chwili obecnej: adiunkt, Zakład Roślin Ozdobnych i Dendrologii, Instytut Produkcji Ogrodniczej (poprzednio Instytut Roślin Ozdobnych i Architektury Krajobrazu, potem Katedra Roślin Ozdobnych i Dendrologii), Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

**4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (Dz. U. 2016 R. POZ. 882 ZE ZM. W Dz. U z 2016 R. POZ. 1311.):**

**4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO:**

Osiągnięciem, stanowiącym podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, jest cykl pięciu oryginalnych prac badawczych opublikowanych w latach 2020 - 2023, ujętych pod wspólnym tytułem:

**Wykorzystanie kultur tkankowych do rozmnażania rzadkich gatunków roślin terenów mokradłowych Polski wschodniej**

**4.2. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO:**

**I.1. Parzymies M.,** Pogorzelec M., Głębocka K., Śliwińska E. 2020. Genetic stability of the endangered species *Salix lapponum* L. regenerated in vitro during the reintroduction process. *Biology*, 9, 378; (100 pkt. MNiSW\*; IF<sub>20</sub>=5,079; IF<sub>5-letni</sub>=4,4; liczba cytowań: WoS=6, Scopus=N/A)

**I.2.** Pogorzelec M., **Parzymies M.** (autor korespondencyjny), Banach-Albińska B., Serafin A., Szczurowska A. 2020. Experimental reintroduction of the boreal species *Salix lapponum* L. to refuges at the southern limit of its range – short-term results. *Boreal Environment Research*, 25: 161-169. (70 pkt. MNiSW\*; IF<sub>2020</sub>=1,289; IF<sub>5-letni</sub>=1,589 liczba cytowań: WoS=5; Scopus=N/A)

**I.3. Parzymies M.** 2021. Nano-silver particles reduce contaminations in tissue culture but decrease regeneration rate and slow down growth and development of *Aldrovanda vesiculosa* explants. *Applied Sciences*, 11, 3653. (100 pkt. MNiSW\*; IF<sub>2021</sub>=2,838; IF<sub>5-letni</sub>=2,9; liczba cytowań: WoS=10; Scopus=13)

**I.4. Parzymies M.,** Pogorzelec M., Świstowska A. 2022. Optimization of propagation of the polish strain of *Aldrovanda vesiculosa* in tissue culture. *Biology*, 11, 1389. (100 pkt. MNiSW\*, IF<sub>2022</sub>=5,168; IF<sub>5-letni</sub>=4,4, liczba cytowani: WoS=2; Scopus=2)

**I.5. Parzymies M.,** Pogorzelec M., Głębocka K., Śliwińska E. 2023. Micropropagation protocol and genetic stability of the *Salix myrtilloides* plants cultivated in vitro. *Biology*, 12,168. (100 pkt. MNiSW\*; IF<sub>2023</sub>=5,168; IF<sub>5-letni</sub>=4,4, liczba cytowań: WoS=1; Scopus=1)

**Łącznie dla ww. cyklu publikacji (dane z dnia 26.06.2023 r.):** sumaryczna ilość punktów MNiSW – **470**, wartość wskaźnika **Impact Factor wg roku opublikowania (IF)** – **17,606**. Liczba cytowań: wg Web of Science=**24**,wg Scopus =**16**.

Średni udział % habilitanta wynosi: **78%**. We wszystkich publikacjach, które wchodziły w skład osiągnięcia naukowego, byłam **autorką koncepcji badań wykonanych w ramach własnego projektu badawczego** „Ochrona czynna aldrowand pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa*) na terenie Lubelszczyzny (POIS.02.04.00-00-0034/18), oraz **zadania badawczego w projekcie** „Ochrona czynna szczególnie zagrożonych gatunków roślin reliktowych z rodziny *Salicaceae* w siedliskach torfowiskowych” (POIS.02.04.00-00-0008/17), a także **głównym wykonawcą badań laboratoryjnych i autorem tekstów prac**. Opis mojego wkładu w powstanie poszczególnych prac zamieściłam w **załączniku nr 4**. Kopie wymienionych wyżej prac zamieściłam w **załączniku nr 5**. Oświadczenia współautorów prac, szczegółowo określające ich indywidualny wkład w powstanie tych prac zamieszczone są w **załączniku nr 6**.

Wymienione powyżej prace (cykl 5 publikacji naukowych) wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, cytowane są poniżej zgodnie z nadaną im numeracją **I.1 – I.5**.

\* wg załączników do komunikatu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego za odpowiedni rok (wg roku opublikowania);

Impact Factor (IF) - zgodnie z rokiem opublikowania

### **3. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA**

W latach 2019-2022 prowadziłam prace badawcze dotyczące mikrorozmnażania wybranych gatunków roślin terenów mokradłowych: wierzby lapońskiej (*Salix lapponum*), wierzby borówkolistej (*Salix myrtilloides*) oraz aldrowandy pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa*), rzadkich i zagrożonych ekstynkcją na terenie Polski. Badania te realizowano w ramach własnego projektu badawczego pt. *Ochrona czynna aldrowandy pęcherzykowatej (Aldrovanda vesiculosa) na terenie Lubelszczyzny* (POIS.02.04.00-00-0034/18) oraz zadania badawczego (którego byłam kierownikiem) w projekcie pt. *Ochrona czynna szczególnie zagrożonych gatunków roślin reliktowych z rodziny Salicaceae w siedliskach torfowiskowych*. Uzyskane wyniki zostały opracowane i opublikowane w cyklu pięciu oryginalnych prac naukowych pod wspólnym tytułem:

#### **„Wykorzystanie kultur tkankowych do rozmnażania rzadkich gatunków roślin mokradłowych Polski wschodniej”,**

które przedkładałam jako osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

#### **3.1. WPROWADZENIE**

Ogrodnictwo w Polsce, w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat, przeszło ogromną zmianę. Szybki postęp technologiczny przyczynił się do opracowania i wdrożenia wielu nowoczesnych metod i technik produkcji. Jednoczesny postęp w naukach biologicznych, pozwolił na wprowadzenie do uprawy wielu nowych, udoskonalonych odmian i gatunków roślin, o wyjątkowych walorach dekoracyjnych lub użytkowych, pochodzących z różnych stref klimatycznych. Coraz częściej pojawiające się we florze ogrodów i terenów zielonych miast gatunki egzotyczne, pomimo niezaprzeczalnych atrybutów dekoracyjnych charakteryzują się słabą zdolnością aklimatyzacji do warunków klimatu naszego kraju. Zwraca się też obecnie uwagę na potencjalną inwazyjność gatunków introdukowanych i zagrożenie jakie mogą stwarzać dla rodzimej flory. Konsekwencją tych zjawisk jest zwracanie się w kierunku wprowadzania do upraw ogrodniczych oraz zielonej infrastruktury miast gatunków rodzimych dla naszej flory. Taksony, które od dziesięcioleci są częścią naturalnego środowiska

przyrodniczego, adoptowały się do lokalnego klimatu, ale również skutecznie opierają się patogenom i szkodnikom, na które potencjalnie narażone są w swoich siedliskach. Gatunki rodzime kształtują również charakterystyczny lokalny krajobraz, tworząc zbiorowiska roślinne i będąc elementem specyficznych nisz ekologicznych dla organizmów związanych z nimi rozmaitymi zależnościami, zarówno w ekosystemach naturalnych jak i tych ukształtowanych przez człowieka.

Wprowadzanie rodzimych gatunków flory do upraw może mieć także znaczenie dla szeroko pojętej ochrony przyrody, a w szczególności dla zachowania taksonów, których populacje są szczególnie narażone na spadek liczebności w ich stanowiskach naturalnych. Ochrona bioróżnorodności, ze szczególnym uwzględnieniem zachowania bogactwa gatunkowego flory jest obecnie wyzwaniem, które podejmują nie tylko służby ochrony przyrody, ale także naukowcy prowadzący badania mające na celu opracowanie efektywnych metod czynnej ochrony gatunków zagrożonych wyginięciem [IUCN. Guidelines for reintroduction and Other Conservation Translocations; IUCN Red List of Threatened Species: Threats Classification Scheme Version 3.2.2017].

Coraz większą popularność zyskują obecnie na całym świecie metody czynnej ochrony gatunków wykorzystujące translokacje, w przypadku których działania prowadzone *ex situ* i *in situ* prowadzone są równolegle i uzupełniają się wzajemnie. W przypadku gatunków roślin stojących na skraju ekstynkcji, których populacje nie są w stanie funkcjonować prawidłowo w środowisku naturalnym stosuje się zabiegi reintrodukcji lub zasilania populacji, wykorzystując materiał pochodzący z uprawy *ex situ*, a nierzadko otrzymany także w kulturach tkankowych [Armstrong i Seddon 2008; Seddon i Armstrong 2016; Zimmer i in. 2019]. Działania te zostały ujęte w Artykule 9 Konwencji o różnorodności biologicznej (Convention on Biological Diversity (CBD) oraz jako Cel 8 Globalnej Strategii Ochrony Roślin (Global Strategy for Plant Conservation) [Convention and Conservation of European Wildlife and natural Habitats, IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-1.2022].

Uprawa gatunków zagrożonych w terenach zieleni stworzonych przez człowieka, poza miejscem ich naturalnego występowania, może przyczynić się w znacznym stopniu do ich ochrony. Walory dekoracyjne i inne specyficzne cechy użytkowe niektórych roślin mogą być dodatkowym atutem warunkującym ich wybór w procesie planowania składu gatunkowego terenów zielonych w przestrzeni miejskiej oraz rolniczej. Pozyskanie w tym celu materiału roślinnego nie może oczywiście naruszać stabilności populacji funkcjonujących w naturalnych ekosystemach, w związku z tym niezbędnym jest podejmowanie prób ich otrzymania metodami opracowanymi dzięki badaniom naukowym.

Pomimo powszechnej dostępności na rynku sadzonek różnych gatunków rodzimych, w tym również należących do grupy gatunków rzadkich, a nawet objętych w Polsce ochroną prawną, wiele taksonów nie jest osiągalnych ze względu na brak opracowanych metod ich rozmnażania ex situ, co skutkuje ich mniejszą popularnością i tym samym rozpoznawalnością wśród nabywców. Na szczególną uwagę zasługują w tym aspekcie rośliny siedlisk podmokłych.

Postępująca urbanizacja wpływa na uszczelnianie gruntów co powoduje, że opady, które są jedynym odnawialnym źródłem wody, nie zasilają wód podziemnych, a tym samym nie są efektywnie wykorzystywane przez rośliny. Na terenach zurbanizowanych coraz częściej proponuje się stosowanie rozwiązań, mających na celu magazynowanie i wykorzystywanie wody opadowej. Jednym ze sposobów takiego gospodarowania jest zastosowanie powierzchni chłonnych i retencyjnych z wykorzystaniem roślinności, które poprawiają lokalne warunki hydrologiczne, podnoszą estetyczne walory otoczenia, poprawiają jakość wód i ekokompensację przyrodniczą na terenach zabudowanych [Bogacz i in. 2013, Siemieniuk i in. 2017]. Zgodnie z najnowszymi tendencjami w projektowaniu terenów zielonych, zalecane jest zakładanie przydomowych zbiorników retencyjnych, do których zalicza się tworzenie powierzchni przepuszczalnych, oczek wodnych czy rowów infiltracyjnych obsadzonych roślinnością [Siemieniuk i in. 2017, źródło internetowe 1]. Rodzima roślinność siedlisk wodnych i bagiennych, może z powodzeniem być wykorzystana jako towarzysząca sztucznym zbiornikom wodnym. Do takich gatunków należą m.in. wierzba lapońska (*Salix lapponum*), wierzba borówkolistna (*Salix myrtilloides*) i aldrowanda pęcherzykowata (*Aldrovada vesiculosa*). Ze względu na fakt, że gatunki te są w Polsce praktycznie nieznane, w części stanowiącej wprowadzenie, przedstawię ich charakterystykę.

Wierzba lapońska (*Salix lapponum*) to gatunek powszechnie rosnący na torfowiskach północnej i północno-wschodniej Europy i zachodniej Syberii. W Polsce potwierdzone stanowiska znajdują się na Równinie Łęczyńsko-Włodawskiej, w Biebrzańskim Parku Narodowym, w Puszczy Knyszyńskiej i w Karkonoszach [Kruszelnicki i in. 2001, Mirek 2006, Fijałkowski i Izdebski 2008, Hroneš i in. 2011, Pogorzelec i in. 2014a, Kołos i in. 2015]. W Polsce, jako relikty glacialne, wierzba lapońska ma status rośliny krytycznie zagrożonej (CR) [Zarzycki i in. 2014, Kaźmierczakowa i in. 2016].

Wierzba borówkolistna (*Salix myrtilloides*) to gatunek eurosyberyjski. Swoim zasięgiem obejmuje wschodnią i środkową Europę i niemal całą Syberię. Zachodnia granica zasięgu przebiega przez Polskę, gdzie potwierdzone stanowiska znajdują się na Pojezierzu Mazurskim, w Biebrzańskim Parku Narodowym, w Poleskim Parku Narodowym oraz na Wyżynie

Małopolskiej [Boratyński 1988, Jasiewicz 1992, Gostyńska-Jakuszczyńska i in. 2001, Piękoś-Mirkowa 2003, Churski i Danielewicz 2008, Pogorzelec i in. 2014a]. Wierzba ta od 1983 roku podlega ścisłej ochronie prawnej w Polsce. Obecnie posiada status EN (gatunek zagrożony wymarciem) [Zarzycki i in. 2014].

Wierzba lapońska i wierzba borówkolistna to niewielkie krzewy, dorastające do około 1 m wysokości. Wysokość i pokrój roślin jest uzależniony od warunków środowiska, wieku i kondycji roślin. Charakterystyczne cechy obu gatunków widoczne są przede wszystkim w obrębie liści. Wierzba lapońska charakteryzuje się srebrzystą barwą pokrytych gęsto kutnerem blaszek liściowych. Wierzba borówkolistna natomiast, ma liście mniejsze, błyszczące i pokryte woskiem. Są to gatunki dwupienne, ambiofilne (wiatro- i owadopylne). Dane literaturowe pochodzące z lat 2000-2006 dotyczące wierzby lapońskiej podają, że gatunek ten rozmnaża się w Polsce głównie wegetatywnie [Kruszelnicki i in. 2001, Rutkowski 2004, Kłosowski i Kłosowski 2006], jednak z nowszych badań prowadzonych przez Pogorzelec i in. [2014b, 2015b] wynika, że rośliny są zdolne do rozmnażania generatywnego, na co wskazują zdolność pyłku i nasion do kiełkowania oraz brak obecności klonów w istniejących populacjach.

Wierzba lapońska preferuje stanowiska mezo- lub oligotroficzne, o odczynie kwaśnym lub lekko kwaśnym (pH 4,2-6,7), słoneczne lub częściowo zacienione, gleby bagienne i torfowe, bogate w materię organiczną [Hroneš i in. 2018, Serafin 2015b]. Wierzba borówkolistna natomiast występuje głównie w nizinnych i podgórskich torfowiskach przejściowych. Preferuje stanowiska torfowe, o niskim odczynie (pH 3,5-6,2), niezakrzewione [Kruszelnicki i Gostyńska-Jakuszczyńska 2014, Serafin i in. 2015a]. Wyniki badań czynników fizyczno-chemicznych siedlisk naturalnych wierzby lapońskiej i wierzby borówkolistej wskazują na niewielką zawartość frakcji azotu i fosforu w wodzie dostępnej dla roślin [Serafin i in. 2015a, 2015b].

Trzeci z badanych gatunków mokradłowych, aldrowanda pęcherzykowata (*Aldrovanda vesiculosa*), to wyjątkowa wodna roślina mięsożerna, należąca do rodziny rosiczkowatych (Droseraceae). Jest to gatunek rzadki i krytycznie zagrożony [Adamec 2018a]. Roślina nie posiada korzeni, swobodnie pływa tuż pod powierzchnią wody [Cross 2012, Fleischmann i in. 2017, Ngangbam i in. 2019]. Wytwarza słabo rozgałęzione pędy o długości do 20 cm, na których w okółkach znajdują się liście przekształcone w pułapki [Kamiński 1987, Cross 2012]. Każda pułapka składa się z dwóch listków, które zawierają włoski czuciowe po wewnętrznej stronie. Gdy włoski zostają podrażnione przez ofiarę, listki zamykają się bardzo szybko [Poppinga i in. 2018]. W odpowiednich warunkach aldrowanda kwitnie i wydaje nasiona, które

kiełkują w temperaturze powyżej 25°C. W Polsce zjawisko to jest jednak wyjątkowo rzadko obserwowane. Rośliny zwykle rozmnażają się wegetatywnie, poprzez rozkrzewianie pędów. Pędy boczne oddzielają się od rośliny matecznej i tworzą nową roślinę [Kamiński 1987, Adamec 1995, Adamec 1999, Cross i in. 2016]. Aby dochodziło do rozmnażania w ten sposób muszą zaistnieć optymalne ekologiczne warunki środowiska. Rośliny mateczne mogą tworzyć do 8 pędów bocznych, jednak zwykle jest to 2-4, a wiele nie produkuje ich wcale [Adamec 1999, Adamec i Kovarova 2006, Cross i in. 2016]. W odpowiedzi na niekorzystne warunki środowiska aldrowanda tworzy turiony, które są formą zimującą. Turiony tworzone są przez bardzo gęsto ułożone liście o skróconych międzywęźlach, które ściśle otaczają delikatny wierzchołek pędu, chroniąc go w ten sposób przed przemarzeniem [Adamec 2018b]. W przeszłości aldrowanda była szeroko rozpowszechniona w ekosystemach wód śródlądowych świata. Obecnie obserwowany jest szybki spadek liczby populacji tego gatunku, stąd został on uznany za gatunek zagrożony wyginięciem (EN) i znalazł się na liście Konwencji Berneńskiej Załącznik 1 [Adamec 2005, Fleischmann i in. 2017, IUCN 2022].

Aldrowanda rośnie w płytkich, osłoniętych od wiatru zatoczkach przy brzegach zbiorników wodnych w pasie szuwarów turzycowych. Preferuje zbiorniki o dnie pokrytym grubą warstwą mułu mineralno-organicznego i porośniętym roślinnością podwodną. Spotykana jest głównie w jeziorach eutroficzno-dystroficznych, o wodzie lekko kwaśnej, z dużą ilością związków humusowych i zróżnicowanej zawartości mineralnych substancji pokarmowych [Kamiński 2006, Kamiński 2014].

Opisane powyżej gatunki roślin mokradłowych z jednej strony wymagają aktywnej ochrony ich populacji w siedliskach naturalnych, z drugiej mogą, jako modelowe, być wprowadzane do terenów zieleni, ze względu na swoje walory dekoracyjne i użytkowe. Gatunki wierzb reliktowych to rośliny o niewielkich rozmiarach, ale o charakterystycznym pokroju i atrakcyjnych pod względem koloru i struktury liściach. Ze względu na swoje specyficzne preferencje siedliskowe mogą być sadzone w pobliżu oczek lub cieków wodnych. Aldrowanda pęcherzykowata to roślina nie tylko interesująca pod względem swojej biologii (owadożerność), ale przede wszystkim pełniąca znaczącą rolę w ekosystemach wodnych (eksploatacja populacji różnych gatunków zooplanktonowych ale także larw komarów – *Culex pipiens*). Utrzymywanie zbiorowisk aldrowandy w oczkach wodnych może być wyjątkową metodą radzenia sobie z uciążliwymi owadami, które często są przyczyną rezygnacji z zakładania niewielkich zbiorników wodnych w otoczeniu człowieka. Ekotypy tego samego

gatunku aldrowandy z różnych części świata mogą być atrakcyjne dla kolekcjonerów jako ozdobne rośliny akwariowe [źródła internetowe 2 i 3].

Opisane gatunki charakteryzują się potencjałem ogrodniczym jako rośliny ozdobne, dzięki czemu mogą uzupełnić grupę roślin wodnych i nadwodnych dostępnych na polskim rynku. Mogą wzbogacić ofertę szeroko rozumianej branży ogrodniczej obejmującej producentów i dystrybutorów roślin ogrodowych, roślin wodnych, roślin akwariowych, ale również być wykorzystane przez architektów krajobrazu. Należy jednak pamiętać, że skuteczne konkutowanie produktów ogrodniczych wiąże się z koniecznością utrzymania produkcji na wysokim poziomie, w oparciu o opracowane nowoczesne metody.

W przypadku gatunków roślin chronionych, głównym problemem wydaje się pozyskanie roślin do sprzedaży. Ze względu na status prawny zabronione jest pozyskiwanie ich ze stanowisk naturalnych, w których jednocześnie ich ilość jest bardzo ograniczona [Ustawa z dn. 16 kwietnia 2004 r. o ochronie przyrody].

Jedną z metod polecanych w celu pozyskiwania osobników gatunków rzadkich lub zagrożonych wyginięciem, jest uprawa roślin w kulturach *in vitro*, czyli mikrorozmnażanie. Obecnie jest to metoda uważana za najbardziej efektywną nie tylko w kwestii ilości, ale również jakości otrzymanego materiału roślinnego. Dzięki kulturom tkankowym można zachować zróżnicowany materiał genetyczny zagrożonych ekstynkcją gatunków roślin, ale przede wszystkim uzyskać nieograniczoną liczbę osobników, bez znaczącej ingerencji w zasoby naturalne gatunków [Salama i in. 2018; Schäfer i in. 2020].

Wprowadzenie do uprawy *in vitro* nowych gatunków roślin wymaga opracowania metod pobierania materiału roślinnego, odkażania eksplantatów, inicjacji kultur *in vitro*, namnażania, ukorzeniania i aklimatyzacji roślin do warunków *ex vitro*. Niezbędne i celowe jest ustalenie, czy rośliny są genetycznie tożsame z rodzicielskimi [Coelho i in. 2020]. W przypadku roślin zagrożonych wyginięciem eksplantaty do zakładania kultur tkankowych pozyskiwane są ze stanowisk naturalnych, co wiąże się z ich zanieczyszczeniem biologicznym (mikroorganizmy), które należy usunąć w procesie dezynfekcji, nie uszkadzając jednocześnie cennych fragmentów roślin. Pojawiające się zakażenia grzybicze i bakteryjne to częsty problem podczas inicjacji kultur *in vitro* [Sarasan i in. 2006]. Ilość materiału roślinnego, który można pobrać z roślin matecznych gatunków objętych ochroną prawną jest zwykle ograniczona, co powoduje, że każdy dostępny fragment jest wyjątkowo cenny, stąd tak ważne jest opracowanie i wdrażanie skutecznych metod odkażania.

Kolejne etapy rozmnażania roślin w kulturach *in vitro* wymagają opracowania specyficznych dla gatunku pożywek, metod i procedur, aby uzyskać zadowalające efekty, czyli

uzyskać rośliny potomne [Gąsienica-Staszeczek i Olejniczak 2016]. Możliwa jest optymalizacja warunków uprawy, w tym temperatury, oświetlenia, oraz zastosowanie odpowiednich pożywek i podłoży hodowlanych, o odpowiednim składzie granulometrycznym i chemicznym.

Problemem pojawiającym się podczas uprawy *in vitro* jest zmienność somaklonalna, szczególnie w przypadku wykorzystywania regulatorów wzrostu lub gdy kultury utrzymywane są przez relatywnie długi czas, dlatego zalecane jest potwierdzenie tożsamości gatunkowej roślin uzyskanych *in vitro* [Endemann i in. 2001; Hossain i in. 2003; Thiem i Śliwińska 2003; Kawiak i Łojkowska 2004; Modgil i in. 2005; Rodrigues 2008; Ochatt i in. 2011; Singh i in. 2012; Thiem i in. 2013; Nybom i in. 2014]. Do tego celu wykorzystuje się markery molekularne, takie jak RAPD (random amplified polymorphic DNA), ISSR (inter-simple sequence repeat) lub AFLP (amplified fragment length polymorphism), jako sposób na wykrycie wariacji genetycznych [Williams i in. 1990; Ziętkiewicz i in. 1994; Vos i in. 1995]. Cytometria przepływowa, za pomocą której określana jest wielkość genomu, to powszechnie stosowana metoda uzupełniająca analizy molekularne [Ochatt i in. 2011; Rewers i in. 2012].

W przypadku omawianych gatunków niewiele jest danych dotyczących rozmnażania, ani metodami tradycyjnymi, ani metodą kultur tkankowych. W dostępnej literaturze opisano jeden przypadek mikrorozmnażania wierzby lapońskiej (*Salix lapponum*) [Brandowa i in. 2011; Skálová i in. 2012]. Autorzy przedstawili rozmnażanie roślin w kulturach *in vitro*, na pożywce Murashige i Skooga (1962), z dodatkiem regulatorów wzrostu: benzyloadeniny (BA) w stężeniu  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  oraz kwasu indolilomasłowego (IBA) w stężeniu  $0,01 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . W przypadku wierzby borówkolistej (*Salix myrtilloides*) nie ma natomiast żadnych danych literaturowych dotyczących rozmnażania metodami tradycyjnymi lub *in vitro*.

Protokół rozmnażania aldrowandy pęcherzykowej (*Aldrovanda vesiculosa*) w kulturach tkankowych został opisany dla rasy japońskiej przez Kondo i in. [1997], którzy opisali metodę dezynfekcji eksplantatów i inicjacji kultur *in vitro* z nasion, które po odkażeniu w etanolu i substancjach chlorowych, były wykładane na pożywkę Gamborga B5 (1968), z dodatkiem kwasu giberelinowego w stężeniu  $20\text{-}50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  oraz antybiotyku. Autorom nie udało się uzyskać pozytywnych efektów związanych z mikrorozmnażaniem rasy europejskiej. Adamec i Pásek [2000] także zaproponowali skład pożywki do mikrorozmnażania aldrowandy w oparciu o pożywkę Gamborga B5, z obniżoną zawartością  $\text{KNO}_3$  do  $500 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , uznali jednak, że metoda nie jest efektywna w związku z dużą liczbą zakażeń i niską liczbą kiełkujących nasion.

Przedstawione przeze mnie „osiągnięcie naukowe” dotyczy opracowania efektywnych metod prowadzenia poszczególnych etapów mikrorozmnażania wybranych gatunków roślin mokradłowych Polski wschodniej zagrożonych wyginięciem. Zaletą zebranych przeze mnie wyników badań jest poszerzenie stanu wiedzy na temat rozmnażania w kulturach *in vitro* wybranych gatunków roślin, czyli wierzby lapońskiej, wierzby borówkolistej oraz aldrowandy pęcherzykowatej, ale też możliwość wykorzystania ich w praktyce do rozmnażania i wprowadzenia do uprawy tych mało znanych, a jakże cennych gatunków.

### 3.2. Cel badań

Podjęte przeze mnie badania służyły uzyskaniu wiedzy na temat wpływu czynników fizyczno-chemicznych na regenerację i rozwój wybranych rodzimych gatunków roślin mokradłowych w kulturach tkankowych. W eksperymentach mających na celu opracowanie protokołu mikrorozmnażania roślin opierano się na dostępnych wynikach badań siedliskowych prowadzonych *in situ* w stanowiskach naturalnego występowania badanych gatunków.

Uzyskana wiedza to nie tylko podstawa do opracowania nowatorskich koncepcji technologicznych, ale też punkt wyjścia do dalszych badań w aspekcie uprawy roślin w szkółkach i terenach zieleni, które potencjalnie mogą zostać wprowadzone na rynek ogrodniczy. Może ona również wspierać działania zmierzające do zachowania puli genowych naturalnych populacji gatunków zagrożonych roślin.

Bezpośrednim efektem przedstawionego osiągnięcia jest **przekazanie po raz pierwszy do praktycznego stosowania podstawowego protokołu rozmnażania wybranych rodzimych gatunków terenów mokradłowych: wierzby lapońskiej, wierzby borówkolistej i aldrowandy pęcherzykowatej**. Opracowane procedury, po ich modyfikacji biorącej pod uwagę specyfikę preferencji poszczególnych gatunków, są gotowe do wykorzystania w celu rozmnażania innych roślin związanych z siedliskami hydrogenicznymi.

Szczegółowe cele badawcze były następujące:

1. opracowanie metod odkażania i inicjacji eksplantatów pierwotnych *Salix lapponum*, *Salix myrtilloides* oraz *Aldrovanda vesiculosa*,
2. opracowanie oryginalnego składu pożywki wzrostowej zapewniającej uzyskanie wysokiego współczynnika rozmnażania i dobrej jakości regenerantów,
3. ustalenie warunków uprawy roślin podczas ich aklimatyzacji.

### 3.3. Omówienie wyników badań

Badania, których wyniki przedstawiam jako swoje „osiągnięcie naukowe”, dotyczące wybranych zagadnień z zakresu biotechnologicznych metod rozmnażania wybranych gatunków roślin mokradłowych, były prowadzone przeze mnie od 2014 roku, głównie w ramach dwóch projektów badawczych: „Ochrona czynna szczególnie zagrożonych gatunków roślin reliktowych z rodziny Salicaceae”, nr POIS.02.04.00-00-0008/17, jako kierownik zadania badawczego oraz „Ochrona czynna aldrowandy pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa*) na terenie Lubelszczyzny”, nr POIS.02.04.00-00-0034/18, jako kierownik projektu.

Opracowanie efektywnych metod rozmnażania to ważny aspekt wprowadzania nowych gatunków i odmian roślin na rynek ogrodniczy. W przypadku badanych gatunków roślin mokradłowych, które objęte są ochroną prawną w Polsce ze względu na status „zagrożone wyginięciem”, niewiele jest dostępnego materiału rozmnożeniowego. W związku z tym, jedynie metody rozmnażania stosowane w warunkach *in vitro* zapewniają pozyskanie dużej ilości i dobrej jakości roślin potomnych.

3.3.1. Opracowanie metod odkażania i inicjacji kultur tkankowych *Salix lapponum*, *Salix myrtilloides* oraz *Aldrovanda vesiculosa*.

W przypadku roślin zagrożonych wyginięciem lub występujących w nielicznych populacjach naturalnych, ilość dostępnego materiału matecznego jest z reguły ograniczona. Jako materiał wyjściowy preferowane są nasiona, głównie ze względu na nieinwazyjny sposób ich pozyskiwania oraz gwarancję pożądanego zróżnicowania genetycznego przyszłych pokoleń. Oba badane gatunki wierzb, *Salix lapponum* i *S. myrtilloides*, w naturalnych siedliskach kwitną i tworzą zdolne do kiełkowania nasiona [Pogorzelec i in. 2015a, Pogorzelec i in. 2016]. Nie stwierdzono jednak rekrutacji siewek roślin w badanych stanowiskach, co stawia pod znakiem zapytania zwiększanie liczebności populacji osobnikami pochodzącymi z rozmnażania generatywnego. W przypadku gatunków z rodzaju *Salix* problematycznym jest również wykorzystanie nasion ze względu na duże prawdopodobieństwo hybrydyzacji będącej wynikiem krzyżowania międzygatunkowego. Aldrowanda pęcherzykowata (*Aldrovanda vesiculosa*) natomiast, w warunkach klimatycznych Polski wschodniej kwitnie sporadycznie i nie wytwarza nasion [Kamiński 2014].

Alternatywnym materiałem rozmnożeniowym w kulturach tkankowych są organy wegetatywne roślin, które obecnie są często wykorzystywane z przeznaczeniem na eksplantaty pierwotne do inicjacji kultur gatunków zagrożonych ekstynkcją [Fay 1992].

Celem prowadzonych badań było opracowanie skutecznych metod odkażania materiału roślinnego dla uzyskania jak największej liczby czystych i regenerujących pędów w kulturach tkankowych.

Jako materiał wyjściowy w przypadku wierzby lapońskiej wykorzystano fragmenty pędów, długości około 5 cm, które pobierano z osobników tworzących najliczniejszą i najbardziej zróżnicowaną genetycznie populację w Polsce wschodniej (na torfowisku nad Jeziorem Bikcze 51°22'724''N; 023°02'563''E) [Głębocka i Pogorzelec 2017]. Pobór materiału roślinnego prowadzono w trzech terminach podczas sezonu wegetacyjnego - wiosną, latem oraz wczesną jesienią (I.2).

W przypadku wierzby borówkolistnej pobierano fragmenty pędów z największej populacji funkcjonującej w Polsce wschodniej (Sobiborski Park Krajobrazowy, torfowisko Dekowina N51°26'39.78''; E23°31'08.94'') (I.5).

Pędy oraz turiony aldrawandy pęcherzykowatej pobierano ze zbiorników wodnych położonych na terenie Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego: Jezioro Orchowe (N51°24'40.30''; E23°04'56.73'') i Jezioro Płotycze (N51°23'38.42''; E23°36'59.84'') oraz Jezioro Długie (N51°27'17.18''; E23°10'12.60'') i Jezioro Łukie (N51°24'40.30''; E23°04'46.73''). Organy roślinne przewożono do laboratorium w plastikowych pojemnikach wypełnionych wodą jeziorną (I.3 i I.4).

Materiał roślinny przeznaczony do inicjacji kultur tkankowych w pierwszym etapie zostaje poddany dezynfekcji. W celu wyeliminowania patogenów chorobotwórczych zasiedlających organy roślinne stosowane są różne zabiegi i techniki odkażania [Sarasani i in. 2006]. Szczególnie problematyczne są endogenne zakażenia bakteryjne i grzybowe [Pence 2005].

W przypadku roślin mokradłowych, ze względu na warunki panujące w miejscu naturalnego występowania, a tym samym specyficzną i wyjątkowo liczną patogenną mikroflorę, opracowanie skutecznej metody odkażania eksplantatów jest wyjątkowo trudne.

Pobrany materiał roślinny badanych gatunków został poddany wstępnej defoliacji, co było szczególnie ważne w przypadku aldrawandy pęcherzykowatej. W zamkniętych pułapkach tej rośliny znajduje się woda jeziorna wraz z mikroorganizmami oraz wodną fauną bezkręgową. Przygotowane w ten sposób eksplantaty w pierwszej kolejności płukano pod bieżącą wodą,

a następnie w wodzie z dodatkiem kilku kropel detergentu Ludwik (GRUPA INCO S.A., Warszawa), dwu- (aldrowanda) lub trzykrotnie (*Salix* sp.) przez 20 minut (I.1 – I.5).

Ze względu na liczne zakażenia grzybowe, w przypadku wierzby lapońskiej i wierzby borówkolistej, zdecydowano się na wykorzystanie do odkażania roztworu wodnego fungicydu Amistar 250 S.C. (substancja czynna azoksystrobina  $25 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), (Syngenta Basel, Szwajcaria), w stężeniu  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  przez 30 minut. W następnym kroku eksplantaty zanurzano na kilka sekund w 70% roztworze alkoholu etylowego.

Dezynfekcja właściwa eksplantatów wierzby lapońskiej (I.1), prowadzona była z użyciem podchlorynu sodu NaOCl (Chempur, Polska) w stężeniu 0,5%, AgNO<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich, USA) w stężeniu 0,5% przez 15 minut lub chlorku rtęci HgCl<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich, USA) w stężeniu 0,1% przez 10 sek. Zastosowano też dezynfekcję dwustopniową, opisaną przez Skálová i in. [2012] dla wierzby lapońskiej. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że najwięcej wolnych od zakażeń i regenerujących pędów uzyskano zanurzając eksplantaty w roztworze chlorku rtęci (35%). Ze względu jednak na jego silne właściwości toksyczne i trudności z utylizacją unika się jego stosowania. Mając na uwadze zarówno możliwość inicjacji czystych kultur tkankowych wierzby lapońskiej oraz kwestie ochrony środowiska stwierdzono, iż właściwsze jest stosowanie NaOCl w stężeniu 0,5%, które pozwala na uzyskanie ok. 20% czystych i regenerujących pędów.

Odkażone fragmenty pędów, zawierające 1-2 węzły, długości około 2 cm, wykładano na pożywki zestalone agarem, zawierające makro- i mikroelementy, myo-inozytol, witaminy i sacharozę według Murashige i Skooga (MS) [1962], uzupełnione regulatorami wzrostu: benzyloadeniną (BA) (Sigma-Aldrich, USA) w stężeniu  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  oraz kwasem indolilomasłowym (IBA) (Sigma-Aldrich, USA) w stężeniu  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Odczyn pożywki ustalono na poziomie pH 5,5. pH dobrano ze względu na kwasowość podłoża występującą w stanowiskach naturalnych [Serafin i in. 2015b]. Eksplantaty umieszczano pojedynczo w probówkach, a następnie probówki umieszczano w pokoju wzrostowym, w warunkach 22°C w dzień i 20°C w nocy, przy 16-godzinny fotoperiodzie i natężeniu światła  $35 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

Dla wierzby borówkolistej (I.5), zastosowano początkowo podobny schemat odkażania, wykorzystując do dezynfekcji właściwej NaOCl w stężeniu 1%. Ze względu na wysoki stopień zakażeń, zwiększono stężenie podchlorynu sodu do 1,5% oraz zastosowano AgNO<sub>3</sub> w stężeniu 0,5%. Lepsze wyniki uzyskano stosując NaOCl (38,8%). Odkażone pędy wykładano na pożywkę o identycznym składzie jak dla wierzby lapońskiej.

Dla obu gatunków wierzb, zastosowany do odkażania AgNO<sub>3</sub>, okazał się toksyczny, powodując nekrozę większości eksplantatów. Zastosowanie dezynfekcji dwustopniowej,

opisanej dla wierzby lapońskiej przez Skálová i in. [2015], nie przyniosło oczekiwanych rezultatów. Populacja wierzby lapońskiej opisana przez Skálová i in. [2015] występuje w terenach górskich, przy potokach. Populacje wierzb badane w niniejszym opracowaniu, występują na terenach podmokłych, gdzie wysoka wilgotność sprzyja występowaniu licznych mikroorganizmów chorobotwórczych, w szczególności grzybów, co powoduje duże trudności w uzyskaniu czystego materiału do inicjacji kultur tkankowych.

Aldrowanda pęcherzykowata to roślina wodna, pływająca, co znacznie utrudnia proces dezynfekcji, ze względu na mocno uwodnione i delikatne tkanki. Dodatkowo roślina posiada liście przekształcone w pułapki, we wnętrzu których znajduje się woda jeziorna, wraz z drobnymi organizmami, które zostały uwięzione we wnętrzu pułapek. W literaturze dostępne są doniesienia dotyczące odkażania i inicjowania kultur aldrowandy rasy japońskiej, szczególnie z wykorzystaniem nasion [Kondo i in. 1997]. Autorzy podejmowali próby dezynfekcji pędów, jednak nie zakończyły się one sukcesem. Badania nad rasą europejską prowadzili Adamec i Pásek [2000], jednak można przypuszczać, że podobnie nie uzyskano zadowalających wyników, ze względu na brak doniesień na ten temat. W przedstawionych badaniach (I.3 i I.4) podjęto się opracowania skutecznej metody dezynfekcji pędów oraz turionów.

Pędy aldrowandy pobrane ze stanowiska naturalnego zostały pocięte na mniejsze fragmenty i poddane defoliacji. Następnie przepłukano je w strumieniu bieżącej wody kranowej, płukano dwukrotnie w wodzie z dodatkiem kilku kropel detergentu Ludwik przez 10 min. i zanurzono na 10 sek. w 70% alkoholu etylowym. Dezynfekcja właściwa została przeprowadzona z użyciem NaOCl w stężeniach 0,25-1% przez 5 min. (I.4). Ze względu na wysoki stopień zakażeń zastosowano także odkażanie dwustopniowe (I.3), gdzie po dezynfekcji eksplantatów w 0,5% roztworze NaOCl, po 24 godzinach zostały one powtórnie zanurzone na kilka sekund w 0,5% NaOCl lub 70% alkoholu etylowym, lub w obu tych substancjach.

Zbadano także możliwość zastosowania nanocząsteczek srebra (AgNPs) dodanych do pożywki w stężeniu  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  jako środka do odkażania materiału roślinnego. Nanocząsteczki metali ze względu na ich zdolność w kierunku eliminowania mikroorganizmów wykorzystywane są obecnie w medycynie, przemyśle spożywczym czy chemicznym [Wang i Shao 2017]. Do najczęściej stosowanych nanozwiązków należą nanocząsteczki srebra (AgNPs), szczególnie w rolnictwie [Yan i Chen 2019]. W sektorze produkcji roślin AgNPs były wykorzystywane jako stymulatory wzrostu roślin [Jasim i in. 2017], składniki nawozów [Elmer i White 2016], a także jako środki ochrony roślin [Maruyama i in. 2016, Worall i in.

2018]. Sugeruje się także, że nanocząsteczki mogą być wykorzystane jako biostymulatory poprawiające rozmnażanie roślin [Saha i Gupta 2018, Thangavelu i in. 2018], także in vitro [Parveen i Rao 2015].

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zastosowanie wyższych stężeń NaOCl (0,5 lub 1%) a także nanocząsteczek srebra, mimo, iż zapewnia większy stopień czystości kultur, jednocześnie prowadzi do zamierania pędów. W przypadku eksplantatów, które dezynfekowano za pomocą NaOCl i kultywowano na pożywce uzupełnionej AgNPs uzyskano 77% czystych pędów, w porównaniu do 61% bez stosowania AgNPs, ale jednocześnie aż u 58% z nich stwierdzono nekrozę, w porównaniu do 36% bez stosowania AgNPs. Największą różnicę zanotowano w przypadku odkażania eksplantatów w etanolu i NaOCl i prowadzenia uprawy w pożywce uzupełnionej AgNPs. W obecności nanocząsteczek srebra 100% eksplantatów zostało odkażonych, z których 100% uległo nekrozie (porównaniu do 62% i 50% odpowiednio bez zastosowania AgNPs). Suplementacja pożywki AgNPs spowodowała też zmiany morfologiczne kultywowanych pędów, które w obecności nanocząsteczek srebra osiągały długość 8,24 mm i nie tworzyły pułapek. Pędy kultywowane w pożywce bez dodatku AgNPs osiągały długość średnio 112 mm i tworzyły pułapki.

**Przedstawione powyżej wyniki badań są pierwszymi, które potwierdzają fakt toksycznego działania nanocząsteczek srebra na badany gatunek. Stosowanie związków nanometali powszechnie, w gospodarstwach domowych, przemyśle lub rolnictwie, może potencjalnie oddziaływać negatywnie, w przypadku ich przedostawania się do wód powierzchniowych, na wodne gatunki roślin w środowisku naturalnym.**

Nieco inaczej postępowano w przypadku turionów *A. vesiculosa*, które pobierano w miesiącach zimowych (listopad - luty) (I.4). Po przywiezieniu do laboratorium umieszczano je w lodówce w temperaturze 4°C, a po 49-70 dniach połowę turionów przenoszono do wody o temperaturze pokojowej, a drugą połowę dezynfekowano z użyciem NaOCl 0,25% przez 5 minut. Zaobserwowano, że turiony, które umieszczono w wodzie, podjęły wzrost i mogły być traktowane identycznie jak pędy pobierane ze stanowisk naturalnych. W przypadku turionów uzyskano aż 90% czystych eksplantatów, jednak tylko 20% z nich regenerowało w pędy.

Odkążone fragmenty pędów oraz turiony wykładano na pożywki wzrostowe (I.3 – I.4). Aldrowanda, jako roślina mięsożerna, jest wrażliwa na wysokie stężenia azotu. Z tego względu oraz biorąc pod uwagę skład chemiczny wód jeziornych, w których funkcjonowały badane rośliny (dane niepublikowane) zastosowano rozcieńczone do 1/5 sole mineralne wg Murashige i Skooga (1962) z dodatkiem tiaminy 0,1 mg·dm<sup>-3</sup>, pirydoksyny 0,5 mg·dm<sup>-3</sup>, niacyny 0,5 mg·dm<sup>-3</sup>, glicyny 2 mg·dm<sup>-3</sup>, myo-inozytolu 100 mg·dm<sup>-3</sup> oraz sacharozy 20 mg·dm<sup>-3</sup>. Pożywki

pozostawiono płynne lub zestalono agarą (6,75 g·dm<sup>-3</sup>). Odczyn pożywki został ustalony na poziomie pH 5,5. Eksplantaty umieszczano pojedynczo w kolbach Erlenmeyera o pojemności 100 ml i kultywowano w pokoju wzrostowym w temperaturze 25°C, przy 16-godzinny fotoperiodzie.

**Uzyskane wyniki opublikowane w pracach I.1, P.I-I.5, wskazują na możliwość uzyskania czystych kultur tkankowych wybranych gatunków roślin mokradlowych: *Salix lapponum*, *Salix myrtilloides* i *Aldrovanda vesiculosa*, z eksplantatów pochodzących z organów wegetatywnych, przy użyciu podchlorynu sodu do dezynfekcji materiału roślinnego.**

3.3.2. Opracowanie oryginalnego składu pożywki wzrostowej zapewniającej uzyskanie wysokiego współczynnika rozmnażania i dobrej jakości regenerantów.

Uzyskane w etapie inicjacji kultur pędy wierzby lapońskiej, wierzby borówkolistej i aldrowandy pęcherzykowatej wykorzystano do dalszych badań, których celem było opracowanie składu pożywki zapewniającego otrzymanie dobrej jakości roślin potomnych.

Zbadano wpływ regulatorów wzrostu na współczynnik rozmnażania badanych gatunków wierzb. Wierzchołkowe lub węzłowe fragmenty pędów wierzby lapońskiej, długości około 2 cm, układano na pożywkę MS uzupełnioną benzyloadeniną (BA), kinetyną (KIN) lub 2-izopentenylo-adeniną (2iP), w stężeniach 0,5; 1 lub 2,5 mg·dm<sup>-3</sup>, pojedynczo lub w kombinacji z auksynami: kwasem indolilomasłowym (IBA) dla BA i 2iP lub kwasem indoliloctowym (IAA) dla kinetyny, w stężeniach 10-krotnie niższych niż zastosowana cytokinina. Kultury trzymało w takich samych warunkach jak w etapie inicjacji (I.1.). W przypadku wierzby borówkolistej (I.5), badany zestaw uzupełniono o stężenie 0,1 mg·dm<sup>-3</sup> cytokinin BA, 2iP i KIN, z pominięciem auksyn.

Zaobserwowano, że badane gatunki w kulturach tkankowych rosną przede wszystkim poprzez tworzenie pędów bocznych oraz wzrost pędu głównego, w związku z tym rozmnażanie polega na dzieleniu pędów na mniejsze jedno- i dwuwęzłowe odcinki oraz oddzielaniu pędów bocznych. Najwyższy współczynnik rozmnażania wierzby lapońskiej uzyskano na pożywce uzupełnionej KIN 0,5 mg·dm<sup>-3</sup> oraz IAA 0,05 mg·dm<sup>-3</sup> (6,45 szt./eksplantat). Regeneranty uzyskane na pożywce o takim składzie charakteryzowały się też dobrą jakością, biorąc pod uwagę wysokość pędu głównego i liczbę liści (I.1.).

W przypadku wierzby borówkolistej (I.5), najwyższy współczynnik regeneracji uzyskano na pożywce zawierającej 2iP w stężeniach 0,1 i 0,5 mg·dm<sup>-3</sup> (7,41 i 6,77

szt/eksplantat odpowiednio). Jednakże, na podstawie obserwacji i pomiarów biometrycznych, można stwierdzić, że pędy uprawiane na tych pożywkach były zdeformowane i brązowiły, podobnie jak w obecności BA Biorąc pod uwagę elongację pędu głównego oraz tworzenie pędów bocznych, najlepszą jakością charakteryzowały się pędy kultywowane w obecności kinetyny, przy czym najwyższy współczynnik rozmnażania uzyskano, gdy do pożywki dodano  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  tej cytokininy w stężeniu  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  (4,77 szt./eksplantat).

Aldrowanda pęcherzykowata, jako roślin mięsożerna, ma odmienne wymagania pokarmowe, dlatego też w badaniach dotyczących regeneracji eksplantatów i ich jakości, badano wpływ stężenia soli mineralnych w pożywce na wzrost i rozwój pędów, ze szczególnym uwzględnieniem azotu (I.4). Zastosowano pożywki rozcieńczone pięciokrotnie: MS lub Gambora B5, rozcieńczone dwukrotnie z zawartością  $\text{KNO}_3$  obniżoną do  $500 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , opierając się na badaniach Kondo i in. [1997]. Odnotowano, że wszystkie eksplantaty podjęły regenerację wyłącznie na pożywce 1/5 MS. Pożywka ta korzystnie wpłynęła też na elongację i krzewienie pędów. Na podstawie prowadzonych obserwacji, stwierdzono także, że pędy uzyskane w obecności 1/5 MS były zielone z dobrze wykształconymi pułapkami. Dla potwierdzenia uzyskanych wyników, regeneranty przełożono na świeże pożywki o takim samym składzie i zaobserwowano, że po drugim pasażu uzyskano porównywalne statystycznie zwiększenie długości pędów głównego i bocznych na pożywkach 1/2 MS oraz 1/2 B5. Pożywka 1/2 MS sprzyjała dodatkowo formowaniu pędów bocznych, których nie stwierdzono na pożywce B5. Z tego względu wykonano kolejne badania porównując wzrost i rozwój eksplantatów wtórnych na pożywkach o różnym stężeniu soli MS (1; 1/2; 1/5 i 1/10) oraz o różnym stężeniu  $\text{KNO}_3$  i  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (2N – w dwukrotnym stężeniu, 1N – w normalnym stężeniu, 1/2N – w stężeniu obniżonym o połowę). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że pędy kultywowane w pożywkach o największym stężeniu soli mineralnych z podwojoną lub pojedynczą zawartością związków azotowych zamarły. Zaobserwowano, że 100% eksplantatów regenerowało na pożywkach o zawartości soli MS zmniejszonej do 1/10 oraz przy 1/2 MS i 1/5 MS przy jednoczesnym obniżeniu zawartości azotu do 1/2. Pożywka 1/10 MS z pełną zawartością azotu w największym stopniu sprzyjała też elongacji pędów (35,64 mm). Wyższe stężenie soli mineralnych (1/2MS) korzystnie oddziaływało natomiast na świeżą masę regenerantów (31,86 mg). Zanotowano, że pędy główne rozkrzewiały się, przy czym najwięcej eksplantatów, wytwarzało pędy boczne, gdy były kultywowane w pożywce 1/5 MS – 1/2 N (79,5%). Uzyskane wyniki potwierdzają preferencje siedliskowe roślin mięsożernych, które w naturalnych stanowiskach zwykle występują w miejscach ubogich

w makro- i mikroskładniki, w szczególności azot i fosfor [Adamec 1999, Adamec 2003, Adamec 2013].

W celu określenia kondycji roślin przeprowadzono analizę zawartości barwników fotosyntetycznych w pędach aldrowandy pęcherzykowej kultywowanej na pożywkach o różnych kombinacjach zawartości makro- i mikroelementów (I.4). Dla porównania, identyczne analizy przeprowadzono na roślinach występujących w zbiornikach wodnych, które posłużyły jako źródło materiału roślinnego do założenia kultur in vitro. Adamec [2008] badając rośliny aldrowandy pęcherzykowej, stwierdził, że w warunkach naturalnych, żywienie się roślin ofiarami, nie miało wpływu na zawartość chlorofilu w liściach. Na podstawie przeprowadzonych w prezentowanej pracy analiz odnotowano tendencję, która wskazywała, że rośliny najlepiej przystosowane do prowadzenia efektywnej fotosyntezy w warunkach in vitro występowały w pożywkach zawierających niską zawartość soli mineralnych (1/5 MS i 1/10 MS) i jednocześnie przy pełnej zawartości azotu (1N), co potwierdza korzystny wpływ tych pożywek na wzrost i jakość badanych regenerantów w warunkach in vitro. Biorąc pod uwagę ekonomiczny aspekt uprawy aldrowandy pęcherzykowej w kulturach in vitro, bardziej korzystne jest stosowanie pożywki 1/10 MS.

### 3.3.3. Ustalenie warunków uprawy roślin podczas ich aklimatyzacji.

Po uzyskaniu pożądanej liczby roślin potomnych, można przeprowadzić kolejne etapy uprawy roślin w kulturach tkankowych, którymi są ukorzenianie i aklimatyzacja do warunków niesterylnych. Wyłącznie ukorzenione, zaaklimatyzowane i zahartowane rośliny mogą zostać wykorzystane do dalszych celów. Rośliny rzadkie i zagrożone wyginięciem, pochodzące z uprawy in vitro, mogą być wykorzystane jako rośliny ozdobne w terenach zieleni, jako kolekcje w ogrodach botanicznych lub reintrodukowane w stanowiska naturalne [Sarasani i in. 2006].

W przypadku badanych gatunków wierzb, *Salix lapponum* i *Salix myrtilloides*, stwierdzono, że regeneranty wytwarzały korzenie na etapie rozmnażania, pominięto więc etap ukorzeniania in vitro (publikacje I.1, I.2 i I.5). Aldrowanda pęcherzykowata nie wytwarza korzeni, naturalnie więc nie wymaga etapu ukorzeniania.

Ukorzenione regeneranty wierzb lapońskiej, długości 7-10 cm, przenoszono do podłoża w trzech terminach: październik, grudzień i luty, zależnie od terminu inicjacji kultur i długości uprawy w kulturach tkankowych (I.1). Pędy sadzono w plastikowe pojemniki o pojemności 1 dm<sup>3</sup> zawierające mieszaninę podłoża złożoną z torfu kwaśnego (pH 3,5-4,5),

odkwaszonego torfu (pH 5,5-6,5), płukanego piasku rzeczno-perlitu, w stosunku objętościowym 1:1:1:1. Do jednego pojemnika sadzono po 10 roślin. Pojemniki z roślinami umieszczono w szklanych akwariach i przykryto szczelnie folią, w celu utrzymania wysokiej wilgotności. Po dwóch tygodniach rozpoczęto hartowanie roślin, sukcesywnie odkrywając folię. Po dwóch miesiącach, rośliny przesadzono pojedynczo do doniczek P9. Po miesiącu rośliny przycięto na wysokość 10 cm, w celu stymulowania rozkrzewiania i zabieg ten powtarzano co 1,5-2 miesiące. Na początku maja rośliny przewieziono do stacji aklimatyzacyjnej znajdującej się w bazie doświadczalnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, gdzie uprawiane były w skrzyniach, na podwyższonych grządkach, bez okrycia. Celem tego zabiegu, było sprawdzenie przeżywalności i zdrowotności roślin po przeniesieniu do warunków naturalnych. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że 100% roślin przeżyło aklimatyzację, gdy pędy pobierano w miesiącach maj i lipiec poprzedniego roku, w porównaniu do 43% z pędów pobieranych we wrześniu. Rośliny te miały długi okres aklimatyzacji w laboratorium, były kilkakrotnie przycinane, w wyniku czego wytworzyły zdrewniałe pędy i liczne pędy boczne. Na podstawie prowadzonych badań stwierdzono, że czas przebywania roślin w uprawie *in vitro* i ich hartowanie mają duży wpływ na późniejszą przeżywalność osobników, co potwierdza przypuszczenia Soares i in. [2020], którzy uznali za prawdopodobne, że czas aklimatyzacji wpływa na przeżywalność roślin w warunkach naturalnych. Według Niinemets [2010] oraz Tojibaev i in. [2019] rośliny odpowiednio uformowane są bardziej odporne na zmiany czynników, które występują *in situ*.

**W publikacji I.1 po raz pierwszy przedstawiono wyniki badań wskazujące na istotną zależność między czasem aklimatyzacji wybranych gatunków do warunków *ex vitro* a parametrami ich późniejszego wzrostu i rozwoju w warunkach naturalnych.**

Kolejny z badanych gatunków roślin, *Aldrowanda vesiculosa*, to roślina pływająca, która nie wytwarza korzeni. Aklimatyzacja uzyskanych regenerantów prowadzona była w plastikowych pojemnikach o wymiarach 50 cm x 30 cm x 12 cm, wypełnionych mieszaniną wody destylowanej oraz filtrowanej wody jeziornej, w stosunku 1:1 (v/v) (I.4). Pojemniki umieszczono w pokoju wzrostowym, z oświetleniem o natężeniu  $35 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , przy 16-godzinnym fotoperiodzie, w temperaturze 25°C. Stwierdzono, że wszystkie rośliny przeżyły aklimatyzację, co widoczne było w postaci wydłużania przedniej części pędu i brązowienia i obumierania części tylnej, co jest naturalnym zjawiskiem dla badanego gatunku. Po 2-3 tygodniach, rośliny przewieziono do stacji aklimatyzacyjnej i przeniesiono do zbiorników o pojemności 90 l, które napełniono wodą jeziorną do 2/3 głębokości. Zbiorniki wyposażono

w automatyczny system uzupełniania wody. Po około 4 tygodniach, rośliny przewieziono do zbiorników naturalnych i umieszczono w pływających siatkach własnej konstrukcji, aby możliwe było monitorowanie ich przeżywalności i zdrowotności. W okresie jesiennym, wrzesień – październik, rośliny rozpoczęły formowanie turionów, co wskazuje na ich prawidłową adaptację in situ. Ze względu na konieczność zimowania turionów w mulistym dnie, rośliny wyjęto z siatek i pozostawiono swobodnie pływające w zbiorniku wodnym.

Rozmnażanie roślin w kulturach tkankowych obarczone jest ryzykiem wystąpienia zmian na poziomie genetycznym. Wariacje somaklonalne to częsty problem w uprawie in vitro, szczególnie gdy kultury prowadzone są z użyciem regulatorów wzrostu [Endemann i in. 2001; Hossain i in. 2003; Kawiak i Łojkowska 2004; Modgil i in. 2005; Rodrigues 2008]. W przypadku roślin pochodzących z uprawy in vitro, zalecane jest sprawdzenie ich stabilności genetycznej oraz zgodności z roślinami matecznymi. W tym celu wykorzystuje się markery molekularne, takie jak RAPD (restriction fragment length polymorphism), ISSR (inter simple sequence repeats) and AFLP (amplified fragment length polymorphism), dzięki którym można wykryć występujące zmiany na poziomie genotypowym [Williams i in. 1990; Ziętkiewicz i in. 1994; Vos i in. 1995]. Coraz częściej wykorzystywaną metodą jest też cytometria przepływowa, która uzupełnia analizy molekularne poprzez ocenę wielkości genomu badanego materiału roślinnego [Ochatt i Pain. 2011; Rewers i in. 2012]. W celu potwierdzenia prawidłowego przebiegu rozmnażania badanych gatunków roślin w kulturach tkankowych, przeprowadzono analizy genetyczne materiału roślinnego pochodzącego z regenerantów oraz roślin matecznych. W przypadku wierzby lapońskiej (I.1), nie można wykluczyć wystąpienia wariacji somaklonalnej w roślinach uprawianych in vitro, chociaż ze względu na brak zróżnicowania roślin pod względem morfologicznym pomiędzy osobnikami uzyskanymi z uprawy in vitro i występującymi na stanowiskach naturalnych, można przypuszczać, że były to zmiany mało istotne. Badania prowadzone z wykorzystaniem cytometrii przepływowej potwierdziły stabilność wielkości genomu roślin uzyskanych na drodze mikrorozmnażania, co wskazuje na brak różnic somaklonalnych. Wielkość genomu wierzby lapońskiej mieściła się w zakresie dla innych gatunków wierzb, które posłużyły jako wartość referencyjna. **Rozmiar genomu badanego gatunku został określony po raz pierwszy.**

W przypadku wierzby borówkolistnej stwierdzono występowanie różnic zarówno na poziomie genotypowym, jak i fenotypowym, w przypadku jednego na 31 regenerantów (I.5). Dla pozostałych osobników nie stwierdzono występowania różnic somaklonalnych. Wyniki badań prowadzonych metodą cytometrii przepływowej potwierdziły stabilność wielkości

genomu badanego materiału roślinnego. Podobnie jak w przypadku wierzby lapońskiej, **rozmiar genomu badanego gatunku nie był wcześniej określony.**

Analizy molekularne dla regenerantów aldrowandy pęcherzykowej zostały przeprowadzone i porównane z wynikami uzyskanymi dla roślin występujących w stanowiskach naturalnych.

**Zgodność genetyczna roślin występujących w warunkach naturalnych i regenerantów uzyskanych w kulturach in vitro, a także rozmiar genomu badanego gatunku zostały określone po raz pierwszy.**

### ***3.5. Podsumowanie wyników badań***

Wyniki uzyskane dzięki przeprowadzonym przeze mnie badaniom pozwoliły w znaczący sposób poszerzyć wiedzę z zakresu inicjacji i uprawy w kulturach tkankowych mało znanych gatunków roślin terenów mokradłowych, zagrożonych wyginięciem na terenie naszego kraju. Sformułowano następujące wnioski o charakterze zarówno poznawczym jak i aplikacyjnym:

1. Mikrorozmnażanie jest metodą dającą możliwość wyprodukowania wielu roślin potomnych w przypadku rodzimych gatunków terenów mokradłowych, wspierając zarówno ochronę bioróżnorodności gatunkowej jak i pozyskiwanie materiału dla branży ogrodniczej.
2. Newralgicznym i najbardziej wymagającym etapem mikrorozmnażania w przypadku gatunków roślin związanych z terenami podmokłymi jest ich odkażanie, od którego efektywności zależy inicjacja kultur tkankowych.
3. Zastosowanie podchlorynu sodu (NaOCl) do dezynfekcji eksplantatów pierwotnych w określonych stężeniach dedykowanych dla poszczególnych gatunków (0,5% dla wierzby lapońskiej (*Salix lapponum*), 1% dla wierzby borówkolistej (*S. myrtilloides*) oraz 0,25% dla aldrowandy pęcherzykowej (*Aldrovanda vesiculosa*)), pozwala na uzyskanie regenerujących i wolnych od patogenów pędów w kulturach in vitro.
4. Metodą znacznie zwiększającą efektywność rozmnażania badanych gatunków roślin w kulturach tkankowych jest stosowanie mechanicznego podziału pędu głównego na odcinki jedno- lub dwuwęzłowe oraz oddzielaniu wyrastających pędów kątowych.

5. Wykorzystanie pożywki Murashige i Skooga (MS) o pełnym składzie podczas mikrorozmnażania badanych gatunków wierzby oraz rozcieńczonej 10-krotnie dla aldrowandy pęcherzykowatej, gwarantuje optymalną efektywność procesu.
6. Aldrowanda pęcherzykowata wykazała wysoki współczynnik rozmnażania w pożywce pozbawionej regulatorów wzrostu. Najwięcej eksplantatów wtórnych wierzby lapońskiej uzyskano w obecności KIN  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  oraz IAA  $0,05 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , wierzby borówkolistej w obecności KIN  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , co potwierdza znaczenie odpowiedniego doboru regulatorów wzrostu w procesie mikrorozmnażania badanych gatunków.
7. Badane gatunki wierzby uprawiane w kulturach tkankowych samoistnie tworzą korzenie, można więc pominąć dodatkowy i kosztowny etap ukorzeniania z wykorzystaniem auksyn-
8. Etap aklimatyzacji badanych gatunków wierzby najefektywniej przebiega (100% przeżywalności sadzonek) jeśli podłoże jest odpowiednio skomponowane i składa się z torfu kwaśnego (pH 3,5-4,5), odkwaszonego torfu (pH 5,5-6,5), płukanego piasku rzeczno-perlitu, w stosunku objętościowym 1:1:1:1. W przypadku aldrowandy pęcherzykowatej przeżywalność roślin wynosi 100%, gdy rośliny są aklimatyzowane do warunków *ex vitro* w środowisku wodnym w mieszaninie wody destylowanej i filtrowanej wody jeziornej (1:1 v/v).
9. Stwierdzona niezmienność genotypów roślin badanych gatunków, które uzyskano na drodze rozmnażania *in vitro* potwierdza jej efektywność w kwestii jakości finalnego produktu.

### 3.6. Literatura

1. Adamec L. 1995. Ecological requirements and the European distribution of the aquatic carnivorous plant *Aldrovanda vesiculosa* L. Folia Geobot. Phytotaxon. 30, 53–61.
2. Adamec L. 1999. Seasonal growth dynamics and overwintering of the aquatic carnivorous plant *Aldrovanda vesiculosa* at experimental field sites. Folia Geobot. 34, 287–297.
3. Adamec L. 2003. Ecophysiological characterization of dormancy states in turions of the aquatic carnivorous plant *Aldrovanda vesiculosa*. Biol. Plant. 47, 395–402.
4. Adamec L. 2005. Ten years after the introduction of *Aldrovanda vesiculosa* to the Czech Republic. Acta Bot. Gall. 152, 239–245.
5. Adamec L. 2008. The influence of prey capture on photosynthetic rate in two aquatic carnivorous plant species. Aquat. Bot. 89, 66–70.
6. Adamec L. 2013. Foliar mineral nutrient uptake in carnivorous plants: What do we know and what should we know? Front. Plants Sci. 4, 10.
7. Adamec L. 2018a. Biological flora of Central Europe: *Aldrovanda vesiculosa* L. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 35, 8–21.
8. Adamec L. 2018b. Ecophysiological characteristics of turions of aquatic plants: A review. Aquat. Bot. 148, 64–77.
9. Adamec L., Kovářová M. 2006. Field growth characteristics of two aquatic carnivorous plants. *Aldrovanda vesiculosa* and *Utricularia australis*. Folia Geobot. 41, 395–406.

10. Adamec L., Pásek K. 2000. Medium optimization for growing *Aldrovanda vesiculosa* in vitro. *Carniv. Plant Newsl.* 29, 122–124.
11. Armstrong D.P., Seddon P.J. 2008. Directions in reintroduction biology. *Trends Ecol. Evol.* 23, 20–25.
12. Bogacz A., Woźniczka P., Burszta-Adamiak E., Kolasińska K. 2013. Metody zwiększania retencji wodnej na terenach zurbanizowanych. *Prz. Nauk. Inż. Kszt. Środ.* 59, 27–35.
13. Boratyński A. 1988. Chronione i godne ochrony drzewa i krzewy polskiej części Sudetów, Pogórza i Przedgórze Sudeckiego: 4. *Salix myrtilloides* L. *Arbor. Kórnickie* 33, 5–11.
14. Brandova B., Hroneš M., Knitl M., Richterovala L., Skálová D., Navratilova B., Vasut R.J. 2011. Biotechnologicke in vitro metody u ohrozenych druhu vrb. *Opera Corcontica* 48, 79–88.
15. Churski M., Danielewicz W. 2008. *Salix myrtilloides* in north central Poland. Distribution, threats and conservation. *Dendrobiology* 60, 3–9.
16. Coelho N., Gonçalves S., Romano A. 2020. Endemic Plant Species Conservation: Biotechnological Approaches. *Plants* 9, 345.
17. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats (Convention Relative à la Conservation de la vie Sauvage et du Milieu Naturel de l'Europe) Bern/Berne, 19.IX.1979 Appendix I—Strictly Protected Flora Species. Available online: [http://www.bghi.org.uk/files/7/0/global\\_strategy.pdf](http://www.bghi.org.uk/files/7/0/global_strategy.pdf) (dostęp 3.11.2022).
18. Cross A.T. *Aldrovanda*. The Waterwheel Plant; Redfern Natural History Productions: Pool Dorset, UK, 2012.
19. Cross A.T., Adamec L., Turner S.R., Dixon K.W., Merritt D.J. 2016. Seed reproductive biology of the rare aquatic carnivorous plant *Aldrovanda vesiculosa* (Droseraceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 180, 515–529.
20. Elmer W.H., White J.C. 2016. The use of metallic oxide nanoparticles to enhance growth of tomatoes and eggplants in disease infested soil or soilless medium. *Environ. Sci. Nano* 3, 1072–1079.
21. Endemann M., Hristoforoglu K., Stauber T., Wilhelm E. 2001. Assessment of age-related polyploidy in *Quercus robur* L. somatic embryos and regenerated plants using DNA flow cytometry. *Biol. Plant.* 44, 339–345.
22. Fay M.F. 1992. Conservation of rare and endangered plants using in vitro methods. *Vitr. Cell. Dev. Biol.-Plant* 28, 1–4.
23. Fijałkowski D., Izdebski K. 2008. Szata roślinna. W: Uziak S., Turski J. (red.), Środowisko przyrodnicze Lubelszczyzny, Lubelskie Towarzystwo Naukowe, Lublin, 317–419.
24. Fleischmann A., Cross A.T., Gibson R., Gonella P.M., Dixon K.W. 2017. Systematics and evolution of Droseraceae. W: *Carnivorous Plants: Physiology, Ecology and Evolution*, Ellison, A., Adamec, L. (red.), Oxford Academic: Oxford, UK.
25. Gąsienica-Staszczek M., Olejniczak P. 2016. Ochrona ex situ zagrożonych gatunków roślin na przykładzie działań Centrum Badań i Ochrony Roślin Górskich w Zakopanem. *Chrońmy Przyr. Ojcz.* 72,1, 14–25.
26. Głębocka K., Pogorzelec M. 2017. Genetic diversity of the *Salix lapponum* L. population intended as a source of material for reintroduction. *Dendrobiology* 78, 136–145.
27. Gostyńska-Jakuszczyńska M., Kruszelnicki J., Rutkowski L. 2001. *Salix myrtilloides* L. Polska czerwona księga roślin. Paprotniki i rośliny kwiatowe. Kraków, Instytut Botaniki im. Władysława Szafera, PAN.
28. Hossain A., Konisho K., Minami M., Nemoto K. 2003. Somaclonal variation of regenerated plants in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica* 130, 233–239.
29. Hroneš M., Hrachová Macurová S., Hradílek Z., Hekera P., Duchoslav M. 2018. Habitat conditions, stage structure and vegetation associations of geographically isolated subalpine populations of *Salix lapponum* L. (Salicaceae) in the Krkonoše Mts (Czech Republic). *Biologia* (2018) 73:319–332.
30. Hroneš M., Hrachová S., Dančák M., Vašut R.J. 2011. Vrba laponská (*Salix lapponum* L.) v Krkonoších. *Opera Corcontica*, 48.
31. IUCN. Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations, Version 1.0, IUCN Species Survival Commission: Gland, Switzerland, 2013, Available online: <https://portals.iucn.org/library/efiles/documents/2013-009.pdf> (dostęp 04.05.2023).
32. IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-1. 2022 (<https://www.iucnredlist.org>, dostęp 04.05.2023).
33. Jasiewicz A. 1992. Flora Polski. Rośliny Naczyniowe. Kraków, Instytut Botaniki im. Władysława Szafera, PAN.
34. Jasim B., Thomas R., Mathew J., Radhakrishnan E.K. 2017. Plant growth and diosgenin enhancement effect of silver nanoparticles in Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Saudi Pharm. J.* 25, 443–447.
35. Kamiński R. 1987. Studies on the ecology of *Aldrovanda vesiculosa* L. II. Organic substances. physical and biotic factors and the growth and development of *A. vesiculosa*. *Ekol. Pol.* 35, 3–4.
36. Kamiński R. 2006. Restytucja aldrowandy pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa* L.) w Polsce i rozpoznanie czynników decydujących o jej przetrwaniu w klimacie umiarkowanym. *Acta Universitatis Wratislaviensis*, 2863, Wyd. Uniwersytetu Wrocławskiego, Wrocław.
37. Kamiński R. 2014. [https://rcin.org.pl/Content/127894/PDF/KR038\\_149723\\_r2014\\_PCzKR-Kaminski-237-239.pdf](https://rcin.org.pl/Content/127894/PDF/KR038_149723_r2014_PCzKR-Kaminski-237-239.pdf) (dostęp 04.05.2023).
38. Kawiak A., Łojkowska E. 2004. Application of rapd in the determination of genetic fidelity in micropropagated *Drosera* plantlets. *Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* 40, 592–595.
39. Kaźmierczakowa R., Bloch-Orłowska J., Celka Z., Cwener A., Dajdok Z., Michalska-Hejduk D., Pawlikowski P., Szczęśniak E., Ziarnik K. 2016. Polska czerwona lista paprotników i roślin kwiatowych. Kraków, Instytut Ochrony Przyrody, PAN.
40. Kłosowski, S.; Kłosowski, G. *Flora Polski Rośliny Wodne i Bagienne*; Multico: Warszawa, Poland, 2006.
41. Kołos A., Wołkowycki D., Banaszuk P., Kamocki A. 2015. Protection of relic plant species at the limit of their geographical range: response of *Salix lapponum* to competitor removal. *Annales Botanici Fennici*, 52, 5–6, 303–315.
42. Kondo K., Kokubugata G., Varghese S.B., Itoyama M., Breckpot C., Kromer K., Kamiński, R. 1997. Conservation of endangered *Aldrovanda vesiculosa* by tissue culture. *Carniv. Plant Newsl.* 26, 89–92.

43. Kruszelnicki, J. 2001. *Salix lapponum* L. W: Polish Red Book of Plants. Pteridophytes and Flowering Plants, Kazimierzczakowa, R., Zarzycki, K., Eds., W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences: Kraków, Poland, 2001, pp. 73–75.
44. Maruyama C.R., Guilger M., Pascoli M., Bileshy-José N., Abhilash P.C., Fraceto L.F., De Lima R. 2016. Nanoparticles based on chitosan as carriers for the combined herbicides Imazapic and Imazapyr. *Sci. Rep.* 6, 19768.
45. Mirek Z. 2006. Red list of plants and fungi in Poland: Czerwona lista roślin i grzybów Polski. Szafer Institute of Botany, PAN,
46. Modgil M., Mahajan K., Chakrabarti S., Sharma D., Sobti R. 2005. Molecular analysis of genetic stability in micropropagated apple rootstock MM106. *Sci. Hortic.* 104, 151–160.
47. Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473–497.
48. Ngangbam R.D., Devi N.P., Devi M.H., Singh P.K. 2019. Rediscovery of *Aldrovanda vesiculosa* L. (Droseraceae). an endangered plant from Manipur in India after six decades, with studies on micromorphology and physico-chemistry of water. *Reinwardtia* 18, 71–80.
49. Niinemets Ü. 2010. Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. *Forest Ecology and Management* 260 (10), 1623–1639.
50. Nybom H., Weising K., Rotter B. 2014. DNA fingerprinting in botany: Past, present, future. *Investig. Genet.* 5, 1.
51. Ochatt S.J., Patat-Ochatt E.M., Moessner A. 2011. Ploidy level determination within the context of in vitro breeding. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 104, 329–341.
52. Parveen A., Rao S. 2015. Effect of nanosilver on seed germination and seedling growth in *Pennisetum glaucum*. *J. Clust. Sci.* 26, 693–701.
53. Pence V.C. 2005. In vitro collecting (IVC). 1. The effect of collecting method and antimicrobial agents on contamination in temperate and tropical collections. *Vitr. Cell. Dev. Biol.-Plant* 41, 324–332.
54. Piękoś-Mirkowa H. 2003. Flora Polski: Atlas Roślin Chronionych. Multico Oficyna Wydawnicza.
55. Pogorzelec M., Bronowicka-Mielniczuk U., Banach B., Szczurowska A., Serafin A. 2014. Relict boreal willows (*Salix lapponum* and *Salix myrtilloides*) as an element of phytocoenoses overgrowing the water bodies in Eastern Poland. *Applied Ecology and Environmental Research*, 12, 2, 441–456.
56. Pogorzelec M., Głębocka K., Hawrylak-Nowak B., Parzymies M. 2014. Reproduction and diversity of the endangered *Salix lapponum* L. populations in Eastern Poland. *Turkish Journal of Botany*, 38(6), 1239–1247.
57. Pogorzelec M., Głębocka K., Hawrylak-Nowak B., Bronowicka-Mielniczuk U. 2015. Assessment of chosen reproductive cycle processes and genetic diversity of *Salix myrtilloides* L. in wetlands of Polesie Lubelskie: the prospects of its survival in the region. *Polish Journal of Ecology*, 63, 291–303.
58. Pogorzelec M., Parzymies M., Bronowicka-Mielniczuk U., Banach B., Serafin A. 2015. Pollen viability and tissue culture initiation of *Salix lapponum*, an endangered species in Poland. *Acta Sci. Pol. Hort. Cult.* 14, 6, 151–161.
59. Pogorzelec M., Serafin A., Banach-Albińska B., Szczurowska A., Parzymies M., Bronowicka-Mielniczuk U. 2016. Pollen viability of an endangered species in Poland – *Salix myrtilloides* L. *Acta Agrobotanica*, 69, 4, 1679.
60. Poppinga S., Bauer U., Speck T., Volkov A.G. 2018. Motile traps. In *Carnivorous Plants: Physiology, Ecology, and Evolution*, W: Ellison A.M., Adamec L. (red.), Oxford University Press: Oxford, UK, 2018, pp. 180–193.
61. Rewers M., Kisiala A.B., Drouin J., Śliwińska E., Cholewa E. 2012. In vitro-regenerated wetland sedge *Eriophorum vaginatum* L. is genetically stable. *Acta Physiol. Plant.* 34, 2197–2206.
62. Rodrigues P.H.V. 2008. Somaclonal variation in micropropagated *Heliconia bihai* cv. Lobster Claw I plantlets (Heliconiaceae). *Sci. Agricola* 65, 681–684.
63. Rutkowski L. 2004. Przewodnik do oznaczania roślin Polski niżowej. PWN, Warszawa, 345.
64. Saha N., Gupta S.D. 2018. Promotion of shoot regeneration of *Swertia chirata* by biosynthesized silver nanoparticles and their involvement in ethylene interceptions and activation of antioxidant activity. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 134, 289–300.
65. Salama A., Shukla M.R., Popova E., Fisk N.S., Jones M.P., Saxena P.K. 2018. In vitro propagation and reintroduction of golden paintbrush (*Castilleja levisecta*), a critically imperilled plant species. *Can. J. Plant Sci.* 98, 762–770.
66. Sarasan V.A., Cripps R., Ramsay M.M., Atherton C., McMichen M., Prendercast G., Rowntree J. 2006. Conservation in vitro of threatened plants—Progress in the past decade. *Vitr. Cell. Dev. Biol.-Plant* 42, 206–214.
67. Schäfer D., Vincent H., Fischer M., Kempel A. 2020. The importance of genetic diversity for the translocation of eight threatened plant species into the wild. *Glob. Ecol. Conserv.* 24, e01240.
68. Seddon P.J., Armstrong, D.P. 2016. Reintroduction and other conservation translocations: History and future developments. W: *Reintroduction of Fish and Wildlife Populations*, Jackowski D.S., Millsaugh J.J., Angermeier P.L., Stotow R. (red.), University of California Press: Oakland, CA, USA, pp. 7–27.
69. Serafin A., Pogorzelec M., Banach B., Mielniczuk J. 2015a. Habitat conditions of the endangered species *Salix myrtilloides* in Eastern Poland. *Dendrobiology*, 73, 55–64.
70. Serafin A., Pogorzelec M., Banach B., Szczurowska A., Mielniczuk J. 2015b. Physico-chemical groundwater conditions at *Salix lapponum* stands in Eastern Poland. *Dendrobiology*, 73, 65–74.
71. Siemieniuk A., Szczukowska J., Wiater J. 2017. Rola zbiorników małej retencji w kształtowaniu jakości wód powierzchniowych na Podlasiu. *Inżynieria Ekologiczna*, 18, 4, 148–154.
72. Singh S.R., Dalal S., Singh R., Dhawan A.K., Kalia R.K. 2012. Evaluation of genetic fidelity of in vitro raised plants of *Dendrocalamus asper* (Schult. & Schult. F.) Backer ex K. Heyne using DNA-based markers. *Acta Physiol. Plant.* 35, 419–430.
73. Skálová D., Navrátilová B., Richterová L., Knit M., Sochor M., Vasut R.J. 2012. Biotechnological methods of in vitro propagation in willows (*Salix* spp.). *Open Life Sci.* 7, 931–940.

74. variation-enhanced cyclotide biosynthesis. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 120: 179–190.
75. Soares J. S., Santiago E. F., Sorgato J. C. 2020. Conservation of *Schomburgkia crispa* Lindl. (Orchidaceae) by reintroduction into a fragment of the Brazilian Cerrado. *Journal for Nature Conservation* 53: 125754.
76. Thangavelu R.M., Gunasekaran D., Jesse M.I., SU M.R., Sundarajan D., Krishnan K. 2018. Nanobiotechnology approach using plant rooting hormone synthesized silver nanoparticles as “nanobullets” for the dynamic applications in horticulture—An in vitro and ex vitro study. *Arab. J. Chem.* 11, 48–61.
77. Thiem B., Śliwińska, E. 2003. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) in vitro cultures. *Plant Sci.* 164, 129–134.
78. Thiem B., Kikowska M., Krawczyk A., Więckowska B., Śliwińska, E. 2013. Phenolic acid and DNA contents of micropropagated *Eryngium planum* L. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 114, 197–206.
79. Tojibaev K., Beshko N., Volis S. 2019. Translocation of *Otostegia bucharica*, a highly threatened narrowly distributed relict shrub. *Plant Diversity* 41 (2): 105–108.
80. Ustawa z dn. 16 kwietnia 2004 r. o ochronie przyrody (Dz. U. 2004 Nr 92 poz. 880, późn. zmianami; Tekst jednolity Dz. U. z 2023 r. poz. 1336).
81. Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van De Lee T., Hornes M., Friters A., Pot J., Paleman J., Kuiper M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23, 4407–4414.
82. Wang P., Hu C., Shao L. 2017. The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future. *Int. J. Nanomed.* 12, 1227–1249.
83. Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J., Tingey S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18, 6531–6535.
84. Worall E.A., Hamid A., Mody K.T., Mitter N., Pappu H.R. 2018. Nanotechnology for plant disease management. *Agronomy* 8, 285.
85. Yan A., Chen Z. 2019. Impacts of silver nanoparticles on plants: A focus on the phytotoxicity and underlying mechanism. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1003.
86. Zarzycki K., Kaźmierczakowa R., Mirek Z. 2014. Polska Czerwona Księga Roślin. Paprotniki i rośliny kwiatowe. Wyd. III uaktualnione i rozszerzone. Kraków, Instytut Ochrony Przyrody PAN.
87. Ziętkiewicz E., Rafalski A., Łabuda D. 1994. Genome fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20, 176–183.
88. Zimmer H.C., Auld T.D., Cuneo P., Offord C.A., Commander L.E. 2019. Conservation translocation—An increasingly viable option for managing threatened plant species. *Aust. J. Bot.* 67, 501–509.
89. Źródło internetowe 1: Przydomowa retencja. <https://gov.pl/retencja/przydomowaretencja> [dostęp 04.05.2023].
90. Źródło internetowe 1: <https://carnivorousplantnursery.com/products/aldivanda-vesiculosa> (dostęp 04.05.2023).
91. Źródło internetowe 2: [https://www.araflorea.com/p392/european\\_aldivanda-vesiculosa](https://www.araflorea.com/p392/european_aldivanda-vesiculosa) (dostęp 04.05.2023).

#### 4.4. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH

##### *przed uzyskaniem stopnia doktora*

Jestem absolwentką jednolitych stacjonarnych studiów magisterskich w Akademii Rolniczej (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie), na Wydziale Ogrodniczym (obecnie Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu), kierunku ogrodnictwo, specjalność rośliny ozdobne. Pracę magisterską z zakresu prowadzenia kultur in vitro, pt. Wpływ pożywki dwufazowej na ukorzenianie *Weigela florida* ‘Bristol Ruby’, wykonałam w Katedrze Roślin Ozdobnych, pod kierunkiem dr hab. Marka Dąbskiego. Bezpośrednio po zakończeniu studiów magisterskich rozpoczęłam studia doktoranckie prowadzone w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie. Pracę doktorską realizowałam pod kierunkiem dr hab. Marka Dąbskiego. **Celem prowadzonych badań było opracowanie optymalnych warunków uprawy w warunkach in vitro wybranych gatunków powojników (*Clematis* sp.), pochodzących z różnych grup botanicznych. Opracowałam skuteczną metodę odkażania eksplantatów pędowych przy pomocy środków grzybobójczych, antybiotyku oraz 1% podchlorynu sodu. Wykazałam też, że**

na wynik odkażania ma wpływ termin pobierania eksplantatów, a także, że pobierając eksplantaty z roślin pędzonych w szklarni, w miesiącach zimowych uzyskuje się najlepszą skuteczność sterylizacji powierzchniowej. Do dalszych eksperymentów, które dotyczyły wpływu wybranych czynników chemicznych i fizycznych na wzrost i rozwój pędów w kulturach *in vitro*, w tym soli mineralnych, regulatorów wzrostu, węglowodanów, węgla aktywnego, hydrolizatu kazeiny, oraz poliamin, wybrałam: *Clematis integrifolia*, odmianę ‘Petit Faucon’ z grupy *integrifolia*, *Clematis viticella* oraz odmianę ‘Polish Spirit’ z grupy *viticella*. **Wyniki badań przedstawione w mojej rozprawie doktorskiej, jak również w publikacjach naukowych przedstawiają protokół mikrorozmnażania wymienionych wyżej gatunków i odmian *Clematis* sp. i stanowią moje pierwsze osiągnięcie naukowe. (załącznik nr 4, pkt. II.4.A.1, II.4.B.3, II.4.B.5)**

W trakcie studiów doktoranckich zostałam także włączona do badań zespołowych jednostki z zakresu uprawy innych roślin ozdobnych w kulturach tkankowych. W ramach tej działalności kontynuowałam prace dotyczące optymalizacji procedury mikrorozmnażania krzewuszkii cudownej (*Weigela florida*) ‘Bristol Ruby’ oraz zajmowałam się opracowywaniem składu pożywki dla dwóch gatunków roślin ozdobnych: *Hebe buchananii* oraz *Hebe canterburiensis*. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że obecność auksyn IAA (kwas indolilo-3-octowy) lub IBA (kwas indolilomasłowy) w stężeniu  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  miała korzystny wpływ na ukorzenianie krzewuszkii cudownej w kulturach *in vitro*, a także, że siedmiodniowa etiolacja korzystnie wpłynęła na zwiększenie liczby korzeni. Stwierdzono też, że zastosowane cytokininy mają wpływ na namnażanie pędów *Hebe buchananii* i *Hebe canterburiensis* ‘Prostrata’ *in vitro*. Najwięcej pędów kątowych *Hebe buchananii* uzyskano w obecności BA (benzyloadeniny) w stężeniu  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , pędów przybyszowych -  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Pędy *Hebe canterburiensis* tworzyły najwięcej pędów kątowych na pożywce zawierającej BA w stężeniu  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , a przybyszowych -  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Udowodniono, że auksyny mają korzystny wpływ na ukorzenianie pędów *Hebe buchananii* i *Hebe canterburiensis* ‘Prostrata’. Najwięcej ukorzenionych mikrosadzonek i najwięcej długich korzeni *Hebe buchananii* uzyskano w obecności IBA. Na pożywce zawierającej IAA w stężeniu  $2,5$  i  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , IBA w stężeniu  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  oraz NAA (kwas naftylooctowy) w stężeniu  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  stwierdzono 100% ukorzenionych sadzonek *Hebe canterburiensis* ‘Prostrata’. Największą liczbę korzeni uzyskano na pożywkach uzupełnionych  $2,5$  i  $5 \text{ mg IAA} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Dodanie do pożywki NAA powodowało kalusowanie podstawy pędu. (załącznik nr 4, pkt. II.4.B.1, II.4.B.2, II.4.B.6)

*po uzyskaniu stopnia doktora*

Po ukończeniu studiów doktoranckich, w 2007 r., zostałam zatrudniona w komercyjnym laboratorium kultur tkankowych ‘Inflora-Flora Kraków’ w Węgrzcach pod Krakowem, na stanowisku kierownika produkcji, gdzie pracowałam do roku 2011. Poza obowiązkami zarządzania i kontroli procesu produkcji roślin w kulturach *in vitro*, prowadziłam badania związane z wprowadzaniem nowych gatunków roślin do uprawy *in vitro* oraz optymalizacją procesu mikrorozmnażania uprawianych gatunków roślin. Ze względu na tajemnicę handlową, uzyskane przeze mnie wyniki badań nie zostały opublikowane i pozostają własnością firmy.

W październiku 2011 roku rozpoczęłam pracę na stanowisku adiunkta w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie, w Instytucie Roślin Ozdobnych i Architektury Krajobrazu (później Katedra Roślin Ozdobnych, Dendrologii i Architektury Krajobrazu), kierowanym przez prof. dr hab. Halinę Laskowską, a następnie prof. dr hab. Danutę Kozak, gdzie pracuję do dzisiaj. Od 1 marca 2019 r., po przeprowadzeniu reorganizacji na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Katedra została przekształcona w Zakład Roślin Ozdobnych i Dendrologii, który wszedł w strukturę Instytutu Produkcji Ogrodniczej, pod kierownictwem dr hab. Zbigniewa Jarosza.

Prowadzone w trakcie studiów doktoranckich eksperymenty stały się podstawą do rozpoczęcia kolejnych badań dotyczących **rozmnażania roślin w kulturach tkankowych, które uważam za główny nurt moich zainteresowań naukowych.**

**Pierwszą grupą roślin, która stała się obiektem moich badań, kontynuując zagadnienia podjęte w pracy doktorskiej, były ozdobne rośliny pnące. Milin amerykański (*Campsis radicans* (L.) Seem.) to pierwszy gatunek pnączy, dla którego opracowałam metodę odkażania eksplantatów pierwotnych, namnażania oraz ukorzeniania regenerantów.** W celu optymalizacji inicjacji oraz rozmnażania w warunkach *in vitro* *C. radicans* badano wpływ różnych metod dezynfekcji i terminów pobierania eksplantatów na poziom zakażeń, wpływ cytokinin na wzrost i rozkrzewianie pędów milinu, wpływ auksyn na ukorzenianie uzyskanych regenerantów oraz możliwość zastosowania ukorzeniania bezpośredniego roślin w podłożu. Uzyskane wyniki wskazują, że zakażenia to poważny problem przy inicjacji kultur tkankowych milinu. Najlepsze rezultaty otrzymano, gdy eksplantaty inicjalne były pobierane wiosną, w maju, krótko po rozpoczęciu wegetacji. Stwierdzono też, że do inicjacji i stabilizacji kultur milinu bardziej nadają się wierzchołki pędów niż węzły. Cytokininy użyte w doświadczeniu miały znaczący wpływ na rozmnażanie *C. radicans*. Najwięcej dobrej jakości pędów uzyskano na pożywce zawierającej KIN

(kinetynę) w stężeniu  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Udowodniono też, że regeneranty, które wyłożono na pożywki uzupełnione auksynami: IAA, IBA i NAA nie tworzyły korzeni natomiast zastosowanie pasażu stymulacyjnego na pożywce niezawierającej regulatorów wzrostu lub uzupełnionej IAA lub IBA w stężeniach  $2,5\text{--}5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  i ukorzenianie pędów bezpośrednio w podłożu pozwoliło na uzyskanie 100% ukorzenionych roślin. **(załącznik nr 4, pkt. II.4.A.2, II.4.A.3)**

Kolejną rośliną pnącą, która stanowiła obiekt badań była mandewilla (*Mandevilla sanderi* (Hemsl.) Woodson). Gatunek ten uznawany jest jako trudny do rozmnażania w kulturach tkankowych. W celu zwiększenia współczynnika rozmnażania podjęto się zbadania, w jakim stopniu regulatory wzrostu oraz rodzaj i położenie eksplantatów wtórnych wpływają na wzrost i rozwój pędów *in vitro*. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że wyższy współczynnik rozmnażania można uzyskać kultywując bezlistne wierzchołki pędów umieszczone horyzontalnie na pożywce horyzontalnie Murashige i Skooga (1962) zawierającej 2iP (2-izopentenyl-adeninę) w stężeniu  $2,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  i  $0,025 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  TDZ (tidiazuron) lub  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  2iP. **(załącznik nr 4, pkt. II.4.A.12, II.4.A.17)**

Obiektem moich badań, oprócz roślin pnących, było rozmnażanie innych gatunków roślin ozdobnych w kulturach tkankowych. Prowadziłam badania dotyczące technologii mikrorozmnażania albicji jedwabistej (*Albizia julibrissin* (Duraz)), wyniki których opublikowano dotychczas w jednej publikacji naukowej **(załącznik nr 4, pkt. II.2.3)**, w której przedstawiony został wpływ węglowodanów na rozmnażanie pędów tej rośliny w kulturach *in vitro*. Kolejnym gatunkiem, dla którego badano możliwość rozmnażania w warunkach *in vitro*, był kosmos czekoladowy (*Cosmos atrosanguineus* (Hook.) Voss). Na drodze eksperymentów sprawdzano wpływ światła oraz rodzaju eksplantatów na wzrost i rozwój regenerantów w trakcie uprawy w kulturach tkankowych. **(załącznik nr 4, II.2.4, II.2.5, II.C.1)**

Opracowano także metodę mikrorozmnażania dla dalii ogrodowej (*Dahlia ×cultorum.*), badając wpływ regulatorów wzrostu na współczynnik rozmnażania oraz aklimatyzację roślin. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że najwięcej regenerantów i najlepszej jakości pędy można uzyskać kultywując eksplantaty na pożywce MS uzupełnionej BA w stężeniu  $2,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  oraz GA<sub>3</sub> (kwas gibberelinowy) w stężeniu  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . **(załącznik nr 4, pkt. II.4.A.11)**

Kolejną grupą roślin, która stała się obiektem moich badań były trawy ozdobne, w tym *Hakonechloa macra*, *Carex muskingumensis* oraz *Pennisetum alopecuroides*, a w szczególności opracowanie skutecznych metod odkażania eksplantatów pierwotnych. W tym celu stosowano m.in. nanocząsteczki srebra, co istotnie zwiększyło liczbę eksplantatów

wolnych od mikroorganizmów chorobotwórczych. (załącznik nr 4, pkt. II.2.6, II.4.A.10, II.4.C.3)

Trudności z odkażaniem zostały stwierdzone także w trakcie dezynfekcji eksplantatów gloriozy (*Gloriosa rotschildiana*) O'Brien oraz czosnków ozdobnych (*Allium* L.). Podjęto się więc identyfikacji oraz opracowania metod eliminacji organizmów chorobotwórczych. Z eksplantatów wyjściowych gloriozy izolowano głównie niepatogeniczne bakterie, wśród których dominowały Gram-ujemne z rodzajów *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* i *Erwinia*. W przypadku czosnków 5 pektolitycznych izolatów *Erwinia* (*Pectobacterium*) wyizolowanych z mikropędów czosnków uznano za patogeniczne, gdyż powodowały zgniliznę pędów badanych taksonów tej rośliny. Do najczęściej izolowanych grzybów należały gatunki z rodzajów *Sarocladium*, *Penicillium*, *Talaromyces* i *Cladosporium*, które powszechnie występują w przyrodzie jako saprotrofy. (załącznik nr 4, pkt. II.4.B.12)

Równolegle z głównym nurtem moich aktywności, którym były badania nad mikrorozmnażaniem wybranych gatunków roślin ozdobnych, wykazany powyżej, angażowałam się również w inne badania naukowe, które opisałam poniżej.

### **Mikrorozmnażanie storczyków w kulturach tkankowych**

Celem prowadzonych badań było określenie w jaki sposób stosowane czynniki chemiczne, w tym skład pożywki, zawartość regulatorów wzrostu, dodatków organicznych oraz warunki agrotechniczne, np. rodzaj podłoża, wpływają na wzrost i rozwój roślin sabotka (*Paphiopedilum insigne*) w kulturach tkankowych oraz na jakość roślin w trakcie aklimatyzacji do warunków *ex situ*, na podstawie analiz fizjologicznych (m.in. zawartość enzymów antyoksydacyjnych i polifenoli w liściach). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że do inicjacji kultur *in vitro* warto stosować całe torebki nasienne jako eksplantaty pierwotne, które zaleca się zanurzać w 96% etanolu i opalać w ogniu. Zastosowanie pożywki dwufazowej z fazą ciekłą (woda sterylna,  $\frac{1}{4}$  MS lub  $GA_3$  400 mg·dm<sup>-3</sup>), sprzyja kiełkowaniu nasion w protokormy. Uzupełnienie pożywki  $\frac{1}{2}$  MS 1 mg·dm<sup>-3</sup> BA i 5 mg·dm<sup>-3</sup> KIN lub 2 mg·dm<sup>-3</sup> TDZ (tidiazuron) stymuluje wzrost i rozwój protokormów w rozety. Najwyższy współczynnik multiplikacji występuje na pożywce  $\frac{1}{2}$  MS z dodatkiem BA w stężeniu 0,5 mg·dm<sup>-3</sup>. W kulturach *in vitro* *Paphiopedilum insigne* widoczne jest brązowienie pożywki powodowane przez związki fenolowe. Kwas askorbinowy w stężeniu 10 mg·dm<sup>-3</sup> lub 1 i 2 g·dm<sup>-3</sup> węgla aktywnego w największym stopniu redukuje zawartości o-dihydroksyfenoli w liściach. Do ukorzeniania *in vitro* zaleca się stosowanie IAA w stężeniu 1 mg·dm<sup>-3</sup>. Zapewnia to 100%

ukorzenianie i korzystnie wpływa na zdolności aklimatyzacyjne roślin. Aklimatyzacja roślin zależy od rodzaju użytego substratu. Rośliny aklimatyzowane w podłożu do storczyków charakteryzują się najlepszymi parametrami stanu fizjologicznego, o czym świadczą wartości maksymalnej fotochemicznej wydajności kwantowej fotosystemu II (Fv/Fm), względnej zawartości wody (RWC) i deficytu wysycenia wodą (WSD)

Przedstawione badania prowadzone były w ramach pracy doktorskiej dr inż. Moniki Poniewozik, w której pełniłam funkcję promotora pomocniczego.

**(załącznik nr 4, pkt. II.4.A.13, II.4.A.16, II.4.A.18, II.4.A.21, II.4.B.9)**

### **Badania nad przedłużaniem trwałości wybranych gatunków roślin uprawianych na kwiat lub zieleni ciętą**

Prowadzono badania dotyczące właściwości morfologicznych i wytrzymałości mechanicznej ciętych pędów roślin strelicji królewskiej (*Strelitzia reginae*) oraz kokoryczki wielokwiatowej (*Polygonatum multiflorum* (L.) All.) 'variegatum', w zależności od sposobu traktowania po ścięciu. Stwierdzono, że traktowanie roślin bezpośrednio po ścięciu wpływa na ich trwałość i odporność na uszkodzenia mechaniczne. W przypadku strelicji królewskiej, uprawianej w szklarni, zalecono kondycjonowanie pędów kwiatostanowych w 0,2% roztworze preparatu Actisil i przechowywanie w 10% roztworze preparatu Chrysal, dzięki czemu możliwe jest wydłużenie trwałości kwiatostanów o 2 dni. W przypadku kokoryczki wielokwiatowej, zalecana jest uprawa roślin w tunelu foliowym oraz stosowanie oprysku roztworem wodnym Actisil 0,2-0,4%, co pozwala na przedłużenie trwałości pędów o 3-4 dni oraz poprawę ich jakości i wytrzymałości na uszkodzenia mechaniczne. **(załącznik nr 4, pkt. II.4.A.9, II.4.A.19)**

### **Doskonalenie metod rozmnażania wegetatywnego dalii ogrodowej**

Prowadzone badania miały na celu określenie najbardziej wydajnej metody rozmnażania wegetatywnego dali ogrodowej (*Dahlia pinnata* (Cav.)) z wykorzystaniem sadzonek wierzchołkowych, pędowych dwu-węzłowych oraz z piętka. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że najwyższy współczynnik rozmnażania można uzyskać wykorzystując sadzonki wierzchołkowe z 2-3 parami liści lub sadzonki pędowe dwu-węzłowe. Zaobserwowano też, że sadzonki z piętka ukorzeniały się najszybciej, chociaż w przypadku pozostałych rodzajów sadzonek liczba ta była niewiele niższa. **(załącznik nr 4, pkt. II.4.A.4, II.4.A.6)**

## **Wpływ suszy i zasolenia na wzrost i rozwój roślin w kulturach tkankowych**

*Carex muskingumensis* to piękna trawa ozdobna uprawiana powszechnie na całym świecie, jednak niewiele jest danych dotyczących genetyki tego gatunku. W prowadzonych badaniach podjęto się ustalenia stabilności genetycznej roślin *C. muskingumensis* uprawianych w kulturach *in vitro*, a następnie aklimatyzowanych do warunków *ex vitro*, które poddane były działaniu stresu osmotycznego, wynikającego z suszy lub zasolenia. Na podstawie uzyskanych wyników wytypowano ADP (cyklaza rybozylowa) oraz białko TBP, jako najbardziej stabilne w warunkach zasolenia wywołanego przez wysokie stężenia NaCl oraz eIF4A i TBP jako najbardziej stabilne w warunkach suszy wywołanej przez PEG. Trzy z testowanych genów (ADP, eIF4A i TBP) charakteryzowały się najwyższą stabilnością ekspresji we wszystkich prowadzonych eksperymentach. Jest to pierwsze doniesienie naukowe dotyczące selekcji genów dla *Carex muskingumensis*. (załącznik nr 4, pkt. II.4.A.15)

Wzrost i rozwój roślin w kulturach *in vitro* w warunkach suszy lub zasolenia to także temat rozprawy doktorskiej, studenta Bairam Solomon Ismael, której byłam promotorem pomocniczym. Dysertacja została przygotowana w formie książkowej, a obecnie przygotowywane są publikacje naukowe.

## **Rola hortiterapii w poprawie zdrowia i jakości życia człowieka**

Hortiterapia oraz bukieciarstwo skierowane są do różnorodnych grup pacjentów, dzieci, osób starszych, pacjentów z zaburzeniami umysłowymi i psychofizycznymi, dla osób z dysfunkcjami sensorycznymi. Zajęcia wykorzystujące hortiterapię lub bukieciarstwo mogą być prowadzone w szpitalach, domach opieki, ośrodkach terapeutycznych, szkołach. Na podstawie przeprowadzonej kwerendy internetowej oraz badań literaturowych przedstawiono rolę hortiterapii i bukieciarstwa w leczeniu i rehabilitacji pacjentów, w oparciu o prowadzone badania naukowe prowadzone w różnych ośrodkach naukowych na całym świecie. Przedstawiono także możliwości zastosowania elementów ogrodnictwa, w tym elementów małej architektury oraz roślinności, w celu stworzenia ogrodów dla różnych grup pacjentów, w tym pacjentów cierpiących na zaburzenia sensoryczne oraz osób cierpiących na zaburzenia pamięci związane nie tylko z wiekiem, ale też wskutek chorób lub urazów. (załącznik nr 4, pkt. II.2.1, II.2.2, II.4.B.10, II.4.B.13)

## **Opracowanie projektu koncepcyjnego wybranego siedliska wiejskiego**

Celem prowadzonych działań było opracowanie projektu koncepcyjnego siedliska wiejskiego w miejscowości Bukówno. W przygotowanym projekcie uwzględniono elementy

charakterystyczne dla wsi regionu Ziemi Białobrzeskiej, na Mazowszu. Przeprowadzono inwentaryzację szaty roślinnej, analizę elementów środowiska i powiązań widokowych, a na podstawie uzyskanych informacji wykonano projekt zagospodarowania działki. (załącznik nr 4, pkt. 4.B.8)

#### **Wybrane aspekty rozmnażania reliktowych gatunków wierzb *Salix lapponum* i *Salix myrtilloides***

We współpracy z pracownikami Wydziału Biologii Środowiskowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, prowadziłam badania dotyczące wybranych zagadnień biologii rozmnażania reliktowych gatunków wierzb, występujących na terenie Polesia Lubelskiego. Celem prowadzonych badań było określenie żywotności pyłku dwóch gatunków, wierzb lapońskiej (*S. lapponum*) i wierzb borówkolistnej (*S. myrtilloides*) oraz określenie warunków niezbędnych do ich kiełkowania w łagiewkę. W przypadku obydwu badanych gatunków, pyłek charakteryzował się dobrą żywotnością w warunkach *in vitro*, co wskazywało na zdolność rozmnażania płciowego tych roślin. Dla największej populacji wierzb lapońskiej we wschodniej Polsce przeprowadzono też analizy genetyczne, na podstawie których nie stwierdzono występowania klonów, co wskazuje na płciowe pochodzenie występujących tam osobników. Pędy wierzb lapońskiej pobrane z tej populacji posłużyły jako materiał wyjściowy do założenia kultur tkankowych, określając eksperymentalnie warunki prowadzenia odkażania eksplantatów oraz skład pożywki hodowlanej do prowadzenia kultur. Badania prowadzone były w ramach projektu dofinansowanego ze środków Funduszy Europejskich Infrastruktura i Środowisko 2014-2020: „Ochrona czynna szczególnie zagrożonych gatunków roślin reliktowych z rodziny Salicaceae w siedliskach torfowiskowych”, w którym byłam kierownikiem zadania „Uzyskiwanie roślin potomnych przeznaczonych do sadzenia i jako matecznik”. (załącznik nr 4, pkt. II.4.A.5, II.4.B.7, II.4.B.11)

#### **Siedliskowe uwarunkowania efektywności ochrony czynnej wybranych rzadkich gatunków roślin terenów mokradłowych**

W ramach współpracy z pracownikami Wydziału Biologii Środowiskowej Uniwersytetu Przyrodniczego Lublin oraz Wydziału Budownictwa i Nauki o Środowisku Politechniki Białostockiej, prowadzono interdyscyplinarne badania, których celem było opracowanie metody selekcji stanowisk dla roślin uzyskanych metodami *ex situ* reintrodukowanych w siedliska naturalne, na przykładzie trzech gatunków rzadkich roślin mokradłowych: wierzb lapońskiej (*Salix lapponum*), wierzb borówkolistnej (*S. myrtilloides*) oraz aldrowandy

pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa*) uzyskanych w kulturach tkankowych. Podejmowane działania dotyczyły oceny siedlisk pod względem występującej flory, analizy czynników fizyczno-chemicznych, zarówno przed wprowadzaniem roślin, celem typowania stanowisk, jak i po procesie wsiedlania, celem ewaluacji prowadzonych czynności, określając wzrost i rozwój reintrodukowanych osobników. Stwierdzono, że znajomość podstaw naukowych dotyczących zarówno biologii i ekologii gatunku, które można poznać w warunkach naturalnych i prowadząc eksperymenty w warunkach laboratoryjnych, jak i danych dotyczących warunków siedliskowych występujących w typowanych stanowiskach są tak samo ważne dla powodzenia reintrodukcji. Biorąc pod uwagę przeżywalność introdukowanych roślin, można też potwierdzić zasadność prowadzenia działań czynnej ochrony gatunków roślin zagrożonych wyginięciem metodami propagacji in situ i reintrodukcji w stanowiska naturalne. Działania prowadzone były w ramach dwóch projektów współfinansowanych ze środków Funduszy Europejskich Infrastruktura i Środowisko: „Ochrona czynna aldrowandy pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa*) na terenie Lubelszczyzny”, w którym byłam kierownikiem projektu, oraz „Ochrona czynna szczególnie zagrożonych gatunków roślin reliktowych z rodziny Salicaceae w siedliskach torfowiskowych”, w którym byłam kierownikiem zadania „Uzyskiwanie roślin potomnych do sadzenia i jako matecznik”. (załącznik nr 4, pkt. II.2.7, II.4.A.14, II.4.A.20, II.4.B.14, II.4.B.15)

## **5. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY**

### **5.1. Katedra Biotechnologii Rolniczej, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Politechnika Bydgoska**

Prowadzone badania dotyczyły tożsamości genetycznej osobników wierzby lapońskiej (*Salix lapponum*) oraz wierzby borówkolistej (*Salix myrtilloides*) uzyskanych w kulturach tkankowych, na podstawie przeprowadzonych analiz porównawczych poszczególnych klonów regenerantów oraz roślin matecznych ze stanowisk naturalnych.

Publikacje:

1. **Parzymies M.**, Pogorzelec M., Głębocka K., Śliwińska E. 2020. Genetic stability of the endangered species *Salix lapponum* L. regenerated in vitro during the reintroduction process.

Biology, 9(11), 378, DOI: 10.3390/biology9110378 (IF<sub>2020</sub> = 5,079, MNiSW = 100),  
(załącznik nr 4, pkt. I.2.1.)

2. **Parzymies M.**, Pogorzelec M., Głębocka K., Śliwińska E. 2023. Micropropagation protocol and genetic stability of the *Salix myrtilloides* plants cultivated in vitro. Biology, 12(2), 168, DOI:10.3390/biology12020168 (IF<sub>2023</sub>=5,168, MNiSW=100). (załącznik nr 4, pkt. I.2.5.)

## **5.2. Zakład Biologii Medycznej, Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie**

Prowadzone badania dotyczyły właściwości odżywczych i zdrowotnych bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*).

Publikacja:

1. Sałata A., Lemieszek M., **Parzymies M.** 2018. The nutritional and health properties of an oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*(Jacq. Fr) P. Kumm.). Acta Sci Pol., Hortorum Cultus, 17 (2), 185-197, DOI: 10.24326/asphc.2018.2.16 (IF<sub>2018</sub>=0,443, MNiSW=20,00). (załącznik nr 4, pkt. II.4.A.8)

## **5.3. Katedra Inżynierii Rolno-Spożywczej i Kształtowania Środowiska, Wydział Budownictwa i Nauki o Środowisku, Politechnika Białostocka**

Współpraca prowadzona była w ramach projektu współfinansowanego ze środków Funduszy Europejskich Infrastruktura i Środowisko: “Ochrona czynna szczególnie zagrożonych gatunków roślin reliktowych z rodziny Salicaceae w siedliskach torfowiskowych”, w którym byłam kierownikiem zadania “Uzyskiwanie roślin potomnych do sadzenia oraz jako matecznik”. W ramach współpracy w wybranych stanowiskach na terenie Puszczy Knyszyńskiej posadzono rośliny wierzby lapońskiej (*Salix lapponum*) oraz wierzby borówkolistnej (*Salix myrtilloides*), uzyskane w kulturach tkankowych w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie. Obecnie prowadzony jest monitoring reintrodukowanych roślin.

## 6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ

### 6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

**6.1.1.** Realizowałam zajęcia dydaktyczne obligatoryjne i fakultatywne (wykłady, ćwiczenia audytoryjne, laboratoryjne i terenowe) na studiach stacjonarnych i niestacjonarnych I, II oraz III stopnia, na kierunkach studiów: Ogrodnictwo, Sztuka Ogrodowa i Aranżacje Roślinne, Architektura Krajobrazu, Zielarstwo i Fitoprodukty (Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu), Gastronomia i Sztuka Kulinarna (Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii), Biokosmetologia (Wydział Biologii Środowiskowej) (Tab. 1).

Tabela 1. Prowadzone zajęcia.

| Wydział                               | Nazwa kierunku studiów | Nazwa przedmiotu                                   | Rodzaj zajęć         |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------------------------------|----------------------|
| Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu | Ogrodnictwo            | Biotechnologia w rozmnażaniu roślin                | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Budowa i pielęgnowanie obiektów małej architektury | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Budowa i pielęgnowanie terenów zieleni             | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Doradztwo ogrodnicze                               | wykłady, ćwiczenia   |
|                                       |                        | Kształtowanie terenów zieleni                      | wykłady              |
|                                       |                        | Kultury in vitro w uprawie roślin ogrodniczych     | wykłady, ćwiczenia   |
|                                       |                        | Kwietniki sezonowe                                 | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Metodologia doświadczalnictwa ogrodniczego         | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Pielęgnacja terenów zieleni                        | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Planowanie produkcji                               | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Podstawy dekoracji roślinnych                      | wykłady, ćwiczenia   |
|                                       |                        | Produkcja kwiatów ciętych i roślin doniczkowych    | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Produkcja roślin doniczkowych                      | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Produkcja kwiatów ciętych                          | ćwiczenia            |
|                                       |                        | Produkcja roślin na kwiat cięty pod osłonami       | Wykłady, ćwiczenia   |
|                                       |                        | Projektowanie rabat i kwietników                   | Ćwiczenia            |
|                                       |                        | Projektowanie terenów zieleni                      | wykłady<br>ćwiczenia |
|                                       |                        | Projektowanie upraw ogrodniczych                   | ćwiczenia            |

|                                          |                                               |                                                                                     |                       |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
|                                          |                                               | Rośliny ozdobne                                                                     | wykłady<br>ćwiczenia  |
|                                          |                                               | Rośliny rabatowe i kwietnikowe                                                      | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          |                                               | Urządzanie i pielęgnowanie terenów zieleni                                          | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Zielarstwo                                                                          | ćwiczenia             |
|                                          | Sztuka<br>Ogrodowa i<br>Aranżacje<br>Roślinne | Bukieciarstwo i dekoracje roślinne                                                  | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          |                                               | Dekoracyjne techniki plastyczne                                                     | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Kompozycje roślinne do dekoracji wnętrz                                             | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          |                                               | Kwiatowe aranżacje okolicznościowe                                                  | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          |                                               | Utrwalanie i preparowanie roślin ozdobnych                                          | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          | Architektura<br>Krajobrazu                    | Budowa i pielęgnowanie obiektów architektury krajobrazu                             | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Budowa obiektów architektury krajobrazu                                             | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Dobór i aranżacja ozdobnych roślin sezonowych                                       | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          |                                               | Historia sztuki ogrodowej                                                           | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Kosztorysowanie                                                                     | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Projektowanie i kształtowanie ogrodów terapeutycznych                               | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          |                                               | Projektowanie małej architektury w przestrzeniach publicznych                       | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Studio projektowe                                                                   | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Szata roślinna - dendrologia                                                        | ćwiczenia             |
|                                          |                                               | Szata roślinna – rośliny zielne ozdobne                                             | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          |                                               | Kompozycje roślinne w terapii zajęciowej                                            | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          | Hortiterapia                                  | Ogrody specjalne                                                                    | wykłady               |
|                                          |                                               | Ogrody terapeutyczne                                                                | wykłady               |
|                                          | Zielarstwo i Fitoprodukty                     | Zielarstwo ogólne                                                                   | ćwiczenia             |
| Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii | Gastronomia i sztuka kulinarna                | Estetyka i sztuka dekorowania w gastronomii                                         | wykłady,<br>ćwiczenia |
| Wydział Biologii Środowiskowej           | Biokosmetologia                               | Biotechnologiczne metody pozyskiwania roślinnych składników produktów kosmetycznych | wykłady,<br>ćwiczenia |
|                                          |                                               | Seminarium dyplomowe w jęz. angielskim                                              | wykłady               |

**6.1.2.** Opracowałam lub aktualizowałam i wdrożyłam autorskie moduły kształcenia na kierunkach studiów I i II stopnia: Ogródnictwo, Sztuka Ogrodowa i Aranżacje Roślinne, Architektura Krajobrazu, Zielarstwo i Fitoprodukty, Gastronomia i Sztuka Kulinarna, Biokosmetologia. (Tab. 2)

Tabela 2. Opracowane i aktualizowane moduły kształcenia

| L.p. | Nazwa kierunku studiów               | Nazwa przedmiotu                                                        | Zakres działania |
|------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 1.   | Ogrodnictwo                          | Aranżacje roślinne                                                      | Aktualizacja     |
| 2.   |                                      | Aranżacje roślinne w szkle                                              | Opracowanie      |
| 3.   |                                      | Aranżacje zieleni we wnętrzach                                          | Opracowanie      |
| 4.   |                                      | Bukieciarstwo i dekoracje roślinne                                      | Aktualizacja     |
| 5.   |                                      | Kosztorysowanie prac ogrodniczych                                       | Opracowanie      |
| 6.   |                                      | Kultury in vitro w uprawie roślin ogrodniczych                          | Aktualizacja     |
| 7.   |                                      | Podstawy dekoracji roślinnych                                           | Aktualizacja     |
| 8.   |                                      | Podstawy florystyki                                                     | Opracowanie      |
| 9.   |                                      | Protected Ornamental Plant Species                                      | Opracowanie      |
| 10.  | Sztuka Ogrodowa i Aranżacje Roślinne | Aranżacje roślinne we wnętrzach                                         | Opracowanie      |
| 11.  |                                      | Aranżacje z roślin doniczkowych                                         | Aktualizacja     |
| 12.  |                                      | Bukieciarstwo                                                           | Aktualizacja     |
| 13.  |                                      | Assortment and arrangement of seasonal plants                           | Opracowanie      |
| 14.  |                                      | Bukieciarstwo i dekoracje roślinne                                      | Opracowanie      |
| 15.  |                                      | Dekoracyjne techniki plastyczne                                         | Opracowanie      |
| 16.  |                                      | Dobór i aranżacja ozdobnych roślin sezonowych                           | Opracowanie      |
| 17.  |                                      | Florystyka okolicznościowa                                              | Opracowanie      |
| 18.  |                                      | Herbaceous ornamental plants                                            | Opracowanie      |
| 19.  |                                      | Kompozycje roślinne do dekoracji wnętrz                                 | Opracowanie      |
| 20.  |                                      | Utrwalanie i preparowanie roślin ozdobnych                              | Opracowanie      |
| 21.  | Architektura Krajobrazu              | Dobór i aranżacja ozdobnych roślin sezonowych (ogrody, balkony, tarasy) | Opracowanie      |
| 22.  |                                      | Dobór i aranżacja ozdobnych roślin sezonowych w terenach zieleni        | Opracowanie      |
| 23.  |                                      | Zasady dekoracji i kompozycji z roślin doniczkowych                     | Aktualizacja     |
| 24.  | Zielarstwo i Fitoprodukty            | Biotechnologiczne metody pozyskiwania źródeł metabolitów wtórnych       | Opracowanie      |
| 25.  |                                      | Kultury in vitro w produkcji zielarskiej                                | Opracowanie      |
| 26.  |                                      | Micropropagation of rare medicinal plants                               | Opracowanie      |
| 27.  |                                      | Modern techniques of rare and protected medicinal plants cultivation    | Opracowanie      |
| 28.  |                                      | Techniki in vitro w zielarstwie                                         | Opracowanie      |

|     |                            |                                                                                     |             |
|-----|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 29. | Enologia<br>i Cydrownictwo | Kultury in vitro w sadownictwie                                                     | Opracowanie |
| 30. | Biokosmetologia            | Biotechnologiczne metody pozyskiwania składników roślinnych produktów kosmetycznych | Opracowanie |
| 31. |                            | Roślinne kultury in vitro w kosmetologii                                            | Opracowanie |
| 32. | Gastronomia i Sztuka       | Dekoracje okolicznościowe w gastronomii                                             | Opracowanie |
| 33. | Kulinarna                  | Estetyka i sztuka dekorowania w gastronomii                                         | Opracowanie |

### 6.1.3. Opieka naukowa nad studentami

**6.1.3.1.** Kierowanie pracami dyplomowymi inżynierskimi oraz magisterskimi na kierunkach Ogrodnictwo oraz Zielarstwo i Fitoprodukty (Tab. 3 i 4):

- liczba zakończonych prac dyplomowych magisterskich: 20
- liczba zakończonych prac dyplomowych inżynierskich: 20
- wykonanie recenzji prac dyplomowych (magisterskich i inżynierskich): 5
- konsultacja projektów inżynierskich: 6

Tabela 3: Kierowanie pracami magisterskimi.

| Lp. | Kierunek                                   | Temat pracy                                                                                                                                                                                   | Data obrony |
|-----|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1.  | doradztwo ogrodnicze stac. IIS             | Regeneracja rodzimych gatunków roszetek w kulturach in vitro w zależności od stężenia pożywki i rodzaju eksplantatu oraz aklimatyzacja uzyskanych regeneratów w zależności od rodzaju podłoża | 01/07/2021  |
| 2.  | ogrodnictwo niestac. IIS                   | Wpływ węgla aktywnego na wzrost i rozwój diploidii w kulturach in vitro                                                                                                                       | 10/07/2020  |
| 3.  | ogrodnictwo stac. IIS                      | Opracowanie metody inicjacji i stabilizacji kultur in vitro wybranych roślin z rodziny Ericaceae                                                                                              | 06/07/2020  |
| 4.  | zielarstwo i terapie roślinne niestac. IIS | Wpływ węgla aktywnego na przyrost biomasy <i>Drosera rotundifolia</i> L. i <i>Drosera anglica</i> Huds. uprawianych in vitro                                                                  | 06/07/2020  |
| 5.  | ogrodnictwo stac. IIS                      | Wpływ nanosrebra na kondycjonowanie i przedłużanie trwałości liści i kwiatostanów hosty ( <i>Hosta</i> sp.)                                                                                   | 01/07/2020  |
| 6.  | zielarstwo i terapie roślinne stac. IIS    | Wpływ węgla aktywnego i elicytacji na wzrost pędów i zawartości wybranych substancji w liściach <i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng. in vitro                                       | 26/06/2019  |

|      |                                               |                                                                                                                                                                                                 |            |
|------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 7.   | zielarstwo i<br>terapię roślinne<br>stac. IIS | Wpływ regulatorów wzrostu i elicytacji na wzrost pędów i zawartość wybranych substancji w liściach bylicy piołun ( <i>Artemisia absinthium</i> L.) uprawianej in vitro                          | 26/06/2019 |
| 8.   | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | Wpływ składu pożywki na wzrost i rozwój pędów borówki amerykańskiej ( <i>Vaccinium corymbosum</i> L.) w kulturach tkankowych                                                                    | 03/07/2018 |
| 9.   | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | Wzrost i rozkrzewianie pędów wierzby lapońskiej ( <i>Salix lapponum</i> L.) w kulturach tkankowych w zależności od zawartości cytokinin i auksyn w pożywce oraz od pH podłoża                   | 30/06/2018 |
| 10.  | zielarstwo i<br>terapię roślinne<br>stac. IIS | Inicjacja kultur tkankowych bylicy piołun ( <i>Artemisia absinthium</i> L.) z nasion w zależności od sposobu traktowania przedsewnego oraz wzrost siewiek w zależności od stężenia BA w pożywce | 26/06/2018 |
| 11.  | zielarstwo i<br>terapię roślinne<br>stac. IIS | Czynniki wpływające na kiełkowanie nasion rukwi wodnej ( <i>Nasturtium officinale</i> W. T. Aiton) w warunkach in vitro                                                                         | 26/06/2018 |
| 12.  | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | Rozwój i rozmnażanie wybranych roślin akwariowych w kulturach in vitro w zależności od zawartości makro- i mikroelementów w pożywce                                                             | 29/06/2017 |
| 13.  | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | Ukorzenianie pędów in vitro i adaptacja w podłożu mikrosadzonek albicji jedwabistej ( <i>Albizia julibrissin</i> Durazz. w zależności od obecności węgla aktywnego w pożywce                    | 29/06/2017 |
| 14.  | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | "Ukorzenianie bezpośrednie w podłożu mikrosadzonek hakonechloi wysmukłej ( <i>Hakonechloa macra</i> Mac. ) uzyskanych w kulturach tkankowych                                                    | 29/06/2017 |
| 15.  | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | " Wpływ składu pożywki na rozkrzewianie hakonechloi smukłej <i>Hakonechloa macra</i> Makino in vitro."                                                                                          | 29/06/2017 |
| 16.  | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | " Wpływ wybranych czynników na wzrost i rozwój hakonechloi smukłej ( <i>Hakonechloa macra</i> Makino) in vitro."                                                                                | 08/07/2016 |
| 17.  | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | " Wpływ wybranych czynników na ukorzenianie albicji jedwabistej ( <i>Albizia julibrissin</i> Durazz. ) in vitro"                                                                                | 23/06/2016 |
| 18.  | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | The effect of the chosen factors on the initiation, stabilization and propagation of the selected varieties of highbush blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ) in vitro                   | 01/06/2016 |
| 190. | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | " Kiełkowanie nasion strelicji królewskiej ( <i>Strelitzia reginae</i> Banks) w warunkach in vitro"                                                                                             | 10/07/2015 |
| 20.  | ogrodnictwo<br>stac. IIS                      | Wzrost i rozkrzewianie trawy ozdobnej <i>Hakonechloa macra</i> (M.) Mak. pod wpływem wybranych czynników in vitro"                                                                              | 23/06/2015 |

Tabela 4. Kierowanie pracami inżynierskimi.

| Lp. | Kierunek                                     | Temat pracy                                                                                                                                                                                 | Data obrony |
|-----|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1.  | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Wpływ węgla aktywnego na wzrost i rozwój <i>Primuliny</i> 'Moonlight' w kulturach tkankowych                                                                                                | 03/03/2021  |
| 2.  | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Wpływ cytokinin i auksyn na wzrost i rozwój <i>Primulina</i> 'Moonlight' w kulturach tkankowych                                                                                             | 11/02/2020  |
| 3.  | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Opracowanie metody odkażania ekspantatów <i>Pieris Japonica</i> (Thunb.) D. Don ex G. Don w celu zastosowania do kultur in vitro                                                            | 11/02/2019  |
| 4.  | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Wpływ zawartości makro- i mikroelementów w pożywce na wzrost i rozkrzewianie gatunków z rodzaju <i>Drosera</i> w kulturach tkankowych                                                       | 11/02/2019  |
| 5.  | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Wykorzystanie roślin sztucznych we florystyce ślubnej                                                                                                                                       | 11/02/2019  |
| 6.  | zielarstwo i<br>terapię roślinne<br>stac. IS | Inicjacja i stabilizacja kultur tkankowych różenia górskiego <i>Rhodiola rosea</i> L.                                                                                                       | 08/02/2018  |
| 7.  | zielarstwo i<br>terapię roślinne<br>stac. IS | Skład wybranych makroelementów w ziele bylicy pospolitej ( <i>Artemisia vulgaris</i> L.), <i>Artemisia herba</i> , uzyskanym w kulturach tkankowych i ze stanowiska naturalnego             | 08/02/2018  |
| 8.  | zielarstwo i<br>terapię roślinne<br>stac. IS | Zawartość świeżej i powietrznie suchej masy w liściach gatunku <i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng. uprawianego w kulturach tkankowych i w podłożu                                | 08/02/2018  |
| 9.  | zielarstwo i<br>terapię roślinne<br>stac. IS | Zawartość suchej masy, witaminy C i białka w ziele bylicy pospolitej ( <i>Artemisia vulgaris</i> L.), <i>Artemisia herba</i> , uzyskanym w kulturach tkankowych i ze stanowiska naturalnego | 08/02/2018  |
| 10. | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Projekt koncepcyjny działki rekreacyjnej z wykorzystaniem roślin iglastych                                                                                                                  | 07/02/2018  |
| 11. | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Projekt koncepcyjny ogrodu pokazowego w stylu japońskim                                                                                                                                     | 07/02/2018  |
| 12. | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Wzrost i rozwój pędów wierzby lapońskiej ( <i>Salix lapponum</i> L.) w kulturach tkankowych w zależności od składu pożywki                                                                  | 07/02/2018  |
| 13. | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Projekt koncepcyjny podwodnego ogrodu do dekoracji wnętrz                                                                                                                                   | 17/02/2017  |
| 14. | ogrodnictwo<br>stac. IS                      | Inicjacja i stabilizacja kultur tkankowych begonii <i>Solenia</i>                                                                                                                           | 07/02/2017  |

|     |                            |                                                                                                                                                                    |            |
|-----|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 15. | ogrodnictwo<br>stac. IS    | Wpływ pH pożywki na wzrost i rozwój rosziczki pośredniej ( <i>Drosera intermedia</i> Hayne) w kólturach tkankowych                                                 | 07/02/2017 |
| 16. | ogrodnictwo<br>stac. IS    | Projekt wielofunkcyjnego elementu wyposażenia ekologicznego placu zabaw                                                                                            | 07/02/2017 |
| 17. | ogrodnictwo<br>stac. IS    | Wzrost i rozkrzewianie wierzby lapońskiej ( <i>Salix lapponum</i> L.) w kulturach tkankowych w zależności od rozwoju eksplantantu i zawartości cytokinin w pożywce | 07/02/2017 |
| 18. | ogrodnictwo<br>stac. IS    | Ogrody na dachach budynków w przestrzeni miejskiej                                                                                                                 | 09/02/2016 |
| 19. | ogrodnictwo<br>stac. IS    | Analiza istniejącego stanu wiedzy na temat mikrorozmnażania traw ozdobnych na przykładzie <i>Hakonechloa macra</i> (M.) Mak.                                       | 09/02/2016 |
| 20. | ogrodnictwo<br>niestac. IS | " Żurawka, żuraweczka i tiarella"                                                                                                                                  | 29/09/2014 |

**6.1.3.2.** W roku 2016 zainicjowałam działalność **Studenckiego Koła Naukowego Roślinnych Kultur Tkankowych**. Pod mogą opieką studenci należący do SKN prowadzili badania naukowe

z zakresu mikrorozmnażania roślin ozdobnych i zielarskich, których wyniki prezentowali na konferencji oraz wielokrotnie uczestniczyli w Lubelskim Festiwalu Nauki i Dniach Otwartych UP Lublin.

**6.1.3.3.** Zgodnie z uchwałą Rady Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu zostałam **promotorem pomocniczym** w przewodzie doktorskim MSc Bairam Solomon Ismael. Obrona rozprawy doktorskiej pt „Badania nad mikrorozmnażaniem *Carex muskingumensis* Schwein. oraz reakcji na stres suszy i zasolenia w kulturach tkankowych” odbyła się 23 września 2020 r.

Zgodnie z uchwałą Rady Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu zostałam powołana do funkcji **promotora pomocniczego** w przewodzie doktorskim mgr inż. Moniki Poniewozik. Obrona rozprawy doktorskiej „Rozmnażanie *Paphiopedilum insigne* (Wall. ex Lind.) Pfitzer w kulturach in vitro” odbyła się 14 lutego 2022 r.

W marcu 2023 r., zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne, zostałam **promotorem pomocniczym** słuchacza Szkoły Doktorskiej UP w Lublinie, mgr inż. Michała Arciszewskiego.

**6.1.3.4.** W ramach programu „Erasmus+” prowadziłam zajęcia w języku angielskim (wykłady i ćwiczenia) z przedmiotów: Ornamental Plants 1, Herbaceous Ornamental Plants.

**6.1.3.5.** W ramach projektu „Mistrzowie Dydaktyki” - University Teaching and Tutoring”, nadzorowanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, prowadzonym przez uczelnie zagraniczne, prowadziłam zajęcia metodą tutoring „Metodologia prowadzenia badań z zakresu uprawy roślin ogrodniczych” (100 godz.), dla 3 studentów Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

**6.1.3.6.** Od roku 2020 jestem opiekunem rocznika 2020/2021 na kierunku „Sztuka Ogrodowa i Aranżacje Roślinne”, na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu.

**6.1.3.7.** W terminie 01.07.2013 – 30.09.2013 byłam opiekunem praktyk studenta zagranicznego, z Cukurova University w Turcji.

**6.1.3.8.** W terminie 01.07.2021-28.07.2021 byłam opiekunem praktyk studentów UP Lublin, kierunku Biotechnologia na studia stacjonarnych I stopnia.

**6.1.3.9.** W latach 2019-2022 sprawowałam opiekę nad wolontariuszami zatrudnionymi w ramach projektu „Ochrona czynna aldrowandy pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa*) na terenie Lubelszczyzny”.

## **6.2. Osiągnięcia organizacyjne**

**6.2.1.** Byłam członkiem zespołu opracowującego program studiów kierunku Sztuka Ogrodowa i Aranżacje Roślinne (I stopień) na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu.

**6.2.2.** Byłam członkiem zespołu opracowującego program studiów podyplomowych dla kierunku „Florystyka” na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu UP w Lublinie.

**6.2.3.** W latach 2016 – 2020 byłam członkiem Rady Programowej na kierunku Ogrodnictwo, na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu. Od roku 2023 jestem członkiem Rady Programowej na kierunku Sztuka Ogrodowa i Aranżacje Roślinne oraz Zielona urbanistyka/Green Urban Planning.

**6.2.4.** W latach 2017-2020 byłam członkiem Komisji Oceniającej na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu UP w Lublinie.

**6.2.5.** W 2021 roku zostałam powołana na członka Zespołu ds. Wizerunku i Promocji Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

**6.2.6.** W roku 2017 byłam przedstawicielem Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu do Rady Studenckich Kół Naukowych UP w Lublinie.

**6.2.7.** W roku 2022 brałam udział w projekcie „Przyrodniczy MIT program dostosowania Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie do wyzwań Nauki 2.0” (POWR.03.05.00-00-Z209/18) jako obsługa inwentaryzacji aparatury naukowo-badawczej.

**6.2.8.** Od początku mojej pracy staram się podnosić swoje kompetencje jako nauczyciela akademickiego. Uczestniczyłam w 6 szkoleniach i warsztatach w tym obszarze (Tab. 5).

Tabela 5. Szkolenia dydaktyczne.

| Lp. | Nazwa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Data          |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 1.  | Ogólnopolska Konferencja „Wyzwania współczesnej edukacji – e-nauczanie”                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 17.09.2005    |
| 2.  | Teoretyczne i praktyczne szkolenie z zakresu Podstawowego Kursu Pierwszej Pomocy Dorosłych i Dzieci, Ratownictwo Medyczne Świdnik.                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 12.02.2019    |
| 3.  | „Kreatywne metody w edukacji na poziomie wyższym”, KIP Training & Consulting Agnieszka Grzelak-Chodak (zaświadczenie 39/10/2019), realizowany w ramach projektu „Zintegrowany Program Rozwoju Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie”, nr POWR.03.05.00-00-Z232/17.                                                                                                                                                                    | 21-24.10.2019 |
| 4.  | „Różnice kulturowe w kontaktach międzynarodowych”, szkolenie w ramach projektu pt. „Instytucjonalne wsparcie UPL w obszarze umiędzynarodowienia poprzez niwelowanie barier komunikacyjnych w wielokulturowym środowisku akademickim „Let ME know YOU – Welcome to ULSL”.                                                                                                                                                               | 05.05.2021    |
| 5.  | „Komunikacja międzykulturowa i organizacja pracy w środowiskach wielokulturowych”, szkolenie w ramach projektu pt. „Instytucjonalne wsparcie UPL w obszarze umiędzynarodowienia poprzez niwelowanie barier komunikacyjnych w wielokulturowym środowisku akademickim „Let ME know YOU – Welcome to ULSL”. 12.01.2023 „Biotechnologia roślin – metodyka, kierunki badań i aplikacje”, Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL. | 20.05.2021    |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                       |           |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 6. | Udział w projekcie „Mistrzowie Dydaktyki- University Teaching and Tutoring”, nadzorowanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, prowadzonym przez uczelnie zagraniczne, wizyta studyjna w University of Groningen, Niderlandy (150 godz.). | 2021-2022 |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|

### 6.3. Popularyzowanie nauki i sztuki

**6.3.1.** Jestem autorem popularno-naukowej publikacji książkowej „Ogród dla zapracowanych” (2006, 115 stron, wydawnictwo Działkowiec, ISBN: 83-89615-12-6).

**6.3.2.** Jestem autorem 50 artykułów oraz 3 cykli artykułów (12) popularno-naukowych w czasopismach popularno-naukowych (**załącznik nr 4, pkt. III.D.2.12-2.55**).

**6.3.3.** Wygłaszanie wykładów, prelekcji, doniesień i komunikatów na konferencjach i seminariach szkoleniowych

**6.3.1.1.** Wykład dla nauczycieli ogrodnictwa pt. „Wartość estetyczna i użytkowa roślin ozdobnych” w ramach seminarium „Produkcja i zastosowanie roślin przyprawowych i leczniczych”, Krajowe Centrum Edukacji Rolniczej w Brwinowie, 17-19.09.2014 Lublin.

**6.3.1.2.** „Ochrona czynna aldrowandy pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa*) na terenie Lubelszczyzny”, Seminarium szkoleniowe dla beneficjentów POIiŚ: Zamykanie projektów, obowiązki beneficjenta w okresie trwałości oraz dobre praktyki w realizacji projektów przyrodniczych, 9-10.05.2023, Centrum Koordynacji Projektów Środowiskowych, Urszulin.

**6.3.1.3.** Wykład „Ochrona czynna aldrowandy pęcherzykowatej (*Aldrovanda vesiculosa*) na terenie Lubelszczyzny” w ramach posiedzenia Rady Naukowej Poleskiego Parku Narodowego (26.05.2023).

### 6.3.2. Uczestnictwo w Lubelskim Festiwalu Nauki (LFN)

Wielokrotnie byłam kierownikiem oraz wykonawcą projektów, w tym warsztatów z tematyki mikorozmnażania roślin oraz florystyki (**załącznik nr 4, pkt. III.B.2.6.1-2.6.6**).

W roku 2015 otrzymałam medal za najbardziej innowacyjny projekt UP w Lublinie przygotowany w ramach XII LFN.

W roku 2020, w ramach Lubelskich Wirtualnych Dni Nauki wzięłam udział w przygotowaniu nagrania cyfrowego „Rozmnażanie roślin in vitro – konieczność, norma czy fanaberia?” realizowanego przez Inkubator Medialno-Artystyczny UMCS.

#### **6.3.3. Dni Otwarte Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

W ramach dni otwartych UP Lublin prowadziłam lub współprowadziłam liczne warsztaty prezentujące zaplecze naukowo-dydaktyczne Uczelni (**załącznik nr 4, pkt III.B.2.7.1-2.7.7**).

#### **6.3.4. Wykłady i warsztaty dla Uniwersytetu Trzeciego Wieku**

W latach 2014-2023 wygłaszałam wykłady dla studentów Lubelskiego Uniwersytetu Trzeciego wieku z zakresu roślin ozdobnych i florystyki. Wielokrotnie też prowadziłam florystyczne warsztaty praktyczne.

16 grudnia 2022 roku przeprowadziłam warsztaty „Hortiterapia jako forma współpracy terapeutycznej dla osób starszych” w ramach Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Gerontologia - współczesne wyzwania”. (**załącznik nr 4, pkt III.B.2.8.1-2.8.4**)

**6.3.5.** Prowadziłam warsztaty dla uczniów szkół podstawowych i ponadpodstawowych z florystyki. W ramach „Wielkiej lekcji otwartej – Roślina jakiej nie znacie” przygotowałam i prowadziłam konkurs z wiedzy ogrodniczej dla uczniów szkół ponadpodstawowych na platformie Kahoot.

**6.3.6.** 2 czerwca 2016 r. prezentowałam wykład dotyczący produkcji roślin ozdobnych w Polsce dla przedstawicieli Punjab Agriculture Association.

**6.3.7.** Brałam udział w audycjach radiowych i telewizyjnych oraz w prasie. (**załącznik nr 4, pkt III.B.2.9.1-2.9.5**)

## 7. INNE INFORMACJE DOTYCZĄCE KARIERY ZAWODOWEJ

7.1. W latach 2007 – 2012 pracowałam jako kierownik produkcji w produkcyjnym laboratorium kultur tkankowych „Inflora-Kraków” sp. z o.o. w Węgrzcach pod Krakowem, gdzie prowadziłam badania związane z optymalizacją mikrorozmnażania wybranych gatunków bylin ozdobnych oraz opracowaniem technologii mikrorozmnażania dla nowych gatunków wprowadzanych do produkcji. Wyniki tych badań są własnością firmy i nie mogą zostać opublikowane. Oprócz pracy badawczej do moich obowiązków należały też prace związane z ogólnie pojętą produkcją, w tym logistyka, zamówienia, kontakt z kontrahentami, zatrudnianie i opieka nad pracownikami związanymi z produkcją, ocena jakości wyprodukowanych roślin oraz czynności związane z eksportem roślin za granicę. Czas spędzony w firmie „Inflora-Kraków” sp. z o.o. traktuję jako staż naukowo-zawodowy, gdyż w trakcie pracy w laboratorium produkcyjnym zdobyłam nie tylko wiedzę i doświadczenie dotyczące mikrorozmnażania roślin, ale też kompetencje związane z szeroko pojętą produkcją i obrotem roślinami ozdobnymi oraz miałam możliwość rozwijać kompetencje społeczne.

7.2. Od początku mojej pracy staram się podwyższać swoje kompetencje naukowe w omówionych wcześniej obszarach. Uczestniczyłam w 10 szkoleniach i warsztatach (Tab. 6).

Tabela 6. Szkolenia naukowe

| Lp. | Nazwa                                                                                                                                                                                        | Data            |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1.  | The intensive course programme on ‘Multifunctionality In Agriculture’, Cordoba, Hiszpania, Ghent University, Faculty of Bioscience Engineering.                                              | 28.03-7.04.2005 |
| 2.  | „Metody statystyczne i wykorzystywanie programów komputerowych”, Centrum Kształcenia Ustawicznego Akademii Rolniczej w Lublinie                                                              | czerwiec 2006   |
| 3.  | „Techniki mapowania i określania składu chemicznego mikroobszarów”, Pracownia Materiałów Kompozytowych i Biomimetycznych KUL Lublin                                                          | 20.10.2012      |
| 4.  | „Terapia ogrodnicza w praktyce – działalność gospodarstw terapeutycznych i podnoszenie kwalifikacji ich pracowników” (DIANA), SGGW, Warszawa                                                 | 28.09.2012      |
| 5.  | „Nowe środki do ulepszania gleby oraz redukcji zanieczyszczeń i rewitalizacji ekosystemu glebowego”, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach i Instytut Technologii Eksploatacji PIB w Radomiu | 7.11.2013       |

|     |                                                                                                                                                                                                                                                    |                           |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 6.  | „Przygotowywanie preparatów mikroskopowych i obsługa analizatora obrazu”, Centralne Laboratorium Agroekologiczne, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.                                                                                             | VI-VII.2015               |
| 7.  | „Innowacyjne rozwiązania w mikroskopii Leica”, KawaSka sp. z o.o.                                                                                                                                                                                  | 06-08.12.2016             |
| 8.  | „Hortiterapia – terapia ogrodem w pracy z grupą”, Centrum Szkoleń i Animacji, Marta Skrzyńska, Chełm. (Nr 02TA/10/2017/599).                                                                                                                       | 21.10.2017                |
| 9.  | Florystyka, Szkoła Policealna Pracowników Służb Społecznych, Lublin. Dyplom potwierdzający kwalifikacje w zawodzie RL.26 Wykonywanie kompozycji florystycznych, w zawodzie 343203 Florysta wydany przez Okręgową Komisję Egzaminacyjną w Krakowie. | 1.10.2017 –<br>22.06.2018 |
| 10. | „How to prepare and publish papers in high impact journals”, Aarhus University, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie                                                                                                                                | 05.03.2021                |
| 11. | „Biotechnologia roślin – metodyka, kierunki badań i aplikacje”, Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL, Lublin.                                                                                                                         | 12.01.2023                |

**7.3.** Wykonałam recenzje publikacji naukowych – w 18 publikacjach z IF oraz 1 z listy B MNiSW. **(załącznik nr 4, pkt II.13.1-13.19)**

**7.4.** Otrzymane nagrody i wyróżnienia:

**7.4.1.** Dyplom i medal za najbardziej innowacyjny projekt UP w Lublinie przygotowany w ramach XII LFN – 2015 r.

**7.4.2.** Brązowy medal za długoletnią służbę – 2018 r.

**7.4.3.** Nagroda indywidualna III stopnia JM Rektora UP Lublin – 2020 r. za osiągnięcia naukowe w roku 2019.

**7.4.4.** Nagroda indywidualna II stopnia JM Rektora UP Lublin – 2021 r. za osiągnięcia naukowe w roku 2020.

**7.4.5.** Nagroda jubileuszowa – 2023 r.

**7.3.** Uczestniczyłam jako autor lub współautor w 38 wystąpieniach na krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych, na których prezentowałam wyniki badań w formie referatów lub posterów. **(załącznik nr 4, pkt II.7.1-7.38)**

Prowadzone przeze mnie badania oraz badania podejmowane we współpracy ze specjalistami różnych dziedzin w zakresie nauk ogrodniczych i przyrodniczych, ze względu na swoją wielokierunkowość dały mi możliwość szerszego spojrzenia na możliwość zastosowania mikrorozmnażania roślin.

Łącznie z cyklem publikacji stanowiących proponowane osiągnięcie habilitacyjne jestem autorem lub współautorem 41 oryginalnych publikacji naukowych, w tym 26 w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (1 z nich to praca samodzielna, w 9 jestem pierwszym autorem, w 11 autorem korespondencyjnym). Jestem też współautorem 7 rozdziałów w monografiach naukowych, 38 komunikatów konferencyjnych oraz 88 publikacji popularno-naukowych.

Na podstawie danych z JCR współczynnik wpływu IF wszystkich prac wynosi 41,475 Sumaryczna liczba cytowani wg Web of Science wynosi 102, Indeks Hirscha wg Web of Science wynosi 6. Spośród wszystkich oryginalnych publikacji 31 opublikowano w języku angielskim, a pozostałe w języku polskim. Sumaryczne zestawienie liczbowe dorobku naukowo-badawczego oraz wskaźników dokonań naukowych zamieszczono w tabeli 7.

Uważam, że moja wiedza z zakresu ogrodnictwa oraz doświadczenie w prowadzeniu badań naukowych udokumentowane przedstawionym dorobkiem wraz z przedstawionym powyżej osiągnięciem naukowym upoważniają mnie do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego nauk ogrodniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Tabela 7. Zestawienie osiągnięć i realizowanych badań w pracy naukowo-badawczej

| Wyszczególnienie                                                          | Liczba dokonań |               | Sumaryczna liczba punktów MNiSW* |               | Sumaryczny IF wg roku opublikowania* |               |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------|----------------------------------|---------------|--------------------------------------|---------------|
|                                                                           | Przed doktorem | Po doktoracie | Przed doktorem                   | Po doktoracie | Przed doktorem                       | Po doktoracie |
| Publikacje                                                                |                |               |                                  |               |                                      |               |
| Publikacje oryginalne z bazy JCR                                          | -              | 26            | -                                | 1780          | -                                    | 41,745        |
| Publikacje z listy MNiSW nieposiadające IF                                | 7              | 9             | 29                               | 223           | -                                    | -             |
| Rozdziały w monografii wieloautorskiej                                    | -              | 9             | -                                | 50            | -                                    | -             |
| Łącznie                                                                   | 7              | 44            | 29                               | 2053          | 0                                    | 41,745        |
|                                                                           | 51             |               | 2082                             |               | 41,745                               |               |
|                                                                           |                |               | Przed doktorem                   |               | Po doktoracie                        |               |
| Udział w konferencjach krajowych / międzynarodowych (w tym zagranicznych) |                |               | 3/0                              |               | 14 /14 (6)                           |               |
| Udział w projektach naukowych (w tym kierowanie projektami)               |                |               | 0                                |               | 2 (1)                                |               |
| Dane bibliometryczne                                                      |                |               |                                  |               |                                      |               |
| Liczba cytowań (bez autocytowań) wg bazy Web of Science* / Scopus*        |                |               | 102 (75) / 98 (70)               |               |                                      |               |
| Indeks Hirscha według bazy Web of Science*/ Scopus*                       |                |               | 6 /6                             |               |                                      |               |

\*dane na dzień 01.09.2023 r.