

prof. dr hab. Wojciech Płader

Instytut Biologii

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

w Warszawie

RECENZJA

dorobku dr inż. Renaty Orłowskiej

w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia

doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych w dyscyplinie

nauki biologiczne

Przedstawioną poniżej ocenę przygotowałem w oparciu o dokumentację przesłaną przez Panią dr hab. Monikę Szczecińską (Rada Naukowa Dyscypliny nauki biologiczne (Wydział Biologii i Biotechnologii, UWM w Olsztynie)) w postaci następujących załączników:

1. Dane osobowe wnioskodawcy,
2. Poświadczona kopia dyplomu doktora,
3. Autoreferat,
4. Wykaz osiągnięć,
5. Publikacje i oświadczenia współautorów
6. Kopie dokumentów potwierdzające osiągnięcia naukowe.

Według mojej oceny, przedstawione wyżej materiały zawierają wystarczające informacje, aby spełnić formalne wymagania określone w art. 219 ust.1 pkt 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz 1668 z późn. zm.).

Sylwetka Habilitantki

Habilitantka uzyskała tytuł magistra w 2001 roku na podstawie pracy „Identyfikacja markerów molekularnych AFLP potencjalnie sprzężonych z recesywnym genem karłowatości *ds1* u żyta (*Secale cereale* L.)”. obronionej na **Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie**, Wydział Biologii a wykonanej w Ogrodzie Botanicznym - Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej Polskiej Akademii Nauk w Powsinie pod opieką doc. dr hab. Heleny Kubickiej. Habilitantka obroniła w **2008** roku rozprawę doktorską „Analiza zmienności somaklonalnej i gametoklonalnej, na poziomie DNA, u jęczmienia *Hordeum vulgare* L.”. pod opieką prof. dr hab. Janusza Zimnego a wykonanej w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin-Państwowym Instytucie Badawczym (IHAR-PIB) w Radzikowie.

Pani dr Renata Orłowska w latach **2001-2002** pracowała w Ogrodzie Botanicznym – Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej Polskiej Akademii Nauk w Pracowni Taksonomii Molekularnej na stanowisku – **biolog** a następnie **od roku 2007** w IHAR-PIB, w Zakładzie Biochemii i Biotechnologii na stanowisku, odpowiednio – **asystent** (w latach 2007-2008) i **adiunkt** (od 2009 roku do teraz).

W latach **2007-2008** i **2010-2013** Habilitantka przebywała na **urlopie macierzyńskim i wychowawczym**, w sumie 4 lata i 2 miesiące.

Ocena głównego osiągnięcia naukowego

Dr Renata Orłowska przedstawiła, jako swoje osiągnięcie naukowe cykl powiązanych tematycznie publikacji naukowych, które zostały zatytułowane „**Jony miedzi i srebra w pożywkach kultur *in vitro* jęczmienia i pszenżyta a zmienność (epi)genetyczna i wydajność regeneracji roślin zielonych**”. W ich skład wchodzi sześć publikacji oryginalnych o następujących tytułach:

- P1. Orłowska R.,** Pachota K.A., Machczyńska J., Niedziela A., Makowska K., Zimny J., Bednarek P.T.* (2020) Improvement of anther cultures conditions using the Taguchi method in three cereal crops. *Electronic Journal of Biotechnology*, 43: 8-15.
- P2. Orłowska R.,** Bednarek P.T.* (2020) Precise evaluation of tissue culture-induced variation during optimisation of *in vitro* regeneration regime in barley. *Plant Molecular Biology*, 103: 33-50.
- P3. Bednarek P.T.*, Orłowska R.** (2020) CG demethylation leads to sequence mutations in an anther culture of barley due to the presence of Cu, Ag ions in the medium and culture time. *International Journal of Molecular Science*, 21 (12): 4401.
- P4. Orłowska R*.,** Pachota K.A., Androsiuk P., Bednarek P.T. (2022) Triticale green plant regeneration is due to DNA methylation and sequence changes affecting distinct sequence contexts in the presence of copper ions in induction medium. *Cells*, 11 (1), 84.
- P5. Orłowska R*.** (2021) Barley somatic embryogenesis-an attempt to modify variation induced in tissue culture. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 28: 9.
- P6. Orłowska R*.,** Zimny J., Bednarek P.T. (2021) Copper ions Induce DNA sequence variation in zygotic embryo culture-derived barley regenerants. *Frontiers in Plant Science*, 11: 614837.

Wszystkie artykuły ukazały się w czasopismach znajdujących się w wykazie MNiSW, spełniając tym samym wymóg formalny art. 219 ust. 1 pkt. 2b Ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” z dn. 20 lipca 2018 r. Pięć publikacji mają charakter zbiorowy, w jednej Habilitantka **jest jedynym autorem**, przy czym dr Orłowska w trzech z nich wskazana jest jako autor korespondencyjny, a w pięciu jest także na pierwszym miejscu wśród autorów, co świadczy o jej dominującym udziale w ich powstaniu. Potwierdzają to zgodne oświadczenia współautorów. Załącznik nr 5 pozwala jednoznacznie ocenić indywidualny wkład habilitantki w poszczególne publikacje, czego wymaga art. 219 ust. 2 Ustawy. We wszystkich publikacjach składających się na osiągnięcie naukowe Habilitantka brała udział w przygotowaniu koncepcji pracy i planowaniu przeprowadzanych badań. Była również wykonawcą prac eksperymentalnych, brała udział w pisaniu manuskryptu, przygotowywaniu rysunków i figur jak również przygotowywała odpowiedzi na recenzje. Jedną z publikacji wchodzących w skład osiągnięcia jest Jej publikacją autorską (P5).

Powyższy opis jednoznacznie świadczy o dużej samodzielności i dojrzałości naukowej dr Orłowskiej, będąc w mojej opinii Jej znaczącym dokonaniem.

Przedstawione publikacje ukazały się w latach **2020 - 2022** w renomowanych czasopismach, takich jak: Electronic Journal of Biotechnology, **IF₂₀₂₀=2,800**; Plant Molecular Biology, **IF₂₀₂₀=4,076**; International Journal of Molecular Science, **IF₂₀₂₀=5,924**; Cells, **IF₂₀₂₀=6,600**; Journal of Biological Research-Thessaloniki, **IF₂₀₂₀=1,889**; Frontiers in Plant Science, **IF₂₀₂₀=5,753**. **Sumaryczny** Impact Factor przedstawionych prac wynosi **27,042**, (**IF5-letni** wynosi **30,664**) a całkowita **liczba punktów MNiSW/MEiN – 590**. Liczba cytowań według SCOPUS wynosi 354 (210 bez auto cytowań) natomiast samych publikacji wchodzących w skład osiągnięcia – 9, co wynika prawdopodobnie z daty publikacji – ostatnie 3 lata, w tym jedna publikacja z 2022 roku.

Przytoczone wyżej wskaźniki bibliometryczne można uznać za znaczące. Zarówno liczba prac jak i częstotliwość publikowania po uzyskaniu stopnia doktora wskazują na wysoką aktywność naukową kandydatki jak również na regularność pracy twórczej.

Zgodnie z tym, co zaznaczyłem powyżej, wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach znajdujących się na liście JCR o wysokim współczynniku wpływu (**1,889 – 6,600**). Na tej podstawie wnioskuję, że zostały one dogłębnie przeanalizowane przez edytorów poszczególnych redakcji przy współudziale recenzentów - wysokiej klasy specjalistów w przedstawianej tematyce, co zwalnia mnie z obowiązku dogłębnej analizy i oceny merytorycznej.

Autoreferat dołączony do zestawu publikacji napisany został bez zastrzeżeń. Habilitantka w sposób przemyślany i precyzyjny, bez zbędnych informacji wprowadza czytającego w zakres tematyczny omawiany w publikacjach, używając jednocześnie szczegółowych opisów w miejscu, gdzie są one niezbędne. W mojej opinii, treści załączonych

publikacji zostały przedstawione w sposób nie budzący zastrzeżeń, wskazując jednocześnie na rozległą i mocno ugruntowaną wiedzę Habilitantki.

Pierwsza publikacja (P1) ma charakter metodyczny. Jej celem było wskazanie optymalnych warunków kultury in vitro zarówno pod względem zawartości jonów Cu^{2+} i Ag^+ jak i czasu przebywania eksplantatów w kulturze in vitro. Analizy prowadzone były na liniach podwojonych haploidów jęczmienia, pszenicy i pszenżyta. Szczegółowo zaprezentowany schemat eksperymentów został zastosowany w pozostałych publikacjach co stanowi ważny element pozwalający na porównywanie otrzymywanych wyników. Gatunkiem przewodnim kolejnych publikacji był jęczmień (P2, P3, P5 i P6) oraz w jednym przypadku pszenżyto (P4). Kolejnym elementem łączącym publikacje było zastosowanie metody Taguchi'ego, która umożliwiła istotną redukcję liczby wariantów eksperymentalnych o 2/3 (z 27 do 9).

W publikacji P3 wprowadzono metodę analizy moderowanej mediacji, która z powodzeniem została zastosowana w analizach opisanych w kolejnych publikacjach. Moje zastrzeżenie budzi wymienne stosowanie terminu „kultury tkankowe” i „hodowle tkankowe”. O ile pierwszy termin jest precyzyjny i odnosi się do prac przedstawionych we wszystkich zaprezentowanych publikacjach, to termin „hodowla” zarezerwowany jest dla zjawiska polegającego na tworzeniu nowych odmian roślin.

Publikacje P5 i P6 gdzie materiałem badawczym były regeneranty jęczmienia uzyskane na drodze kultur in vitro niedojrzałych zarodków zygotycznych stanowią bardzo dobre uzupełnienie wcześniejszych prac (P2 i P3) w których rośliny jęczmienia uzyskano w kulturach pylnikowych po spontanicznej diploidyzacji.

Wysoce zadowalającym, w moim przekonaniu, jest przedstawienie w podrozdziale „Najważniejsze nowatorskie i praktyczne osiągnięcia rozprawy habilitacyjnej” wniosku nr 8 i 9 gdzie Habilitantka porównała między sobą wyniki analiz pomiędzy dwoma różnymi systemami regeneracji (podwojone haploidy vs niedojrzałe zarodki somatyczne) z zachowaniem, jak wspominałem powyżej, identycznego schematu eksperymentalnego.

W przedstawionych publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia Habilitantki warsztat badawczy był adekwatny, bazujący głównie na analizach metAFLP, (z rozwinięciem szacowania zmian w określonych sekwencjach symetrycznych oraz asymetrycznych) w powiązaniu z metodą Taguch'iego do optymalizacji eksperymentu oraz analizami moderowanej mediacji. Świadczy to o umiejętnościach nie tylko technicznych ale i o zdolnościach analitycznych i interpretacyjnych uzyskanych wyników.

Z obowiązku muszę wskazać na niefortunne stosowanie przez Habilitantkę określenia „manipulowanie” w kontekście składu pożywek, zarówno w publikacjach źródłowych jak i w autoreferacie. Ma ono wydźwięk pejoratywny i zamiast niego powinno używać się np. modyfikowanie, zmiana, itp.

W podsumowaniu tej części recenzji uważam, że uzyskane przez Habilitantkę wyniki są niezwykle ważne i wartościowe, wnosząc szereg nowych informacji w zakresie podjętej przez Nią problematyki badawczej mające również, co uważam za bardzo istotne, znaczenie aplikacyjne.

Tym samym stwierdzam, że przedstawiony cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe dr Renary Orłowskiej jest osiągnięciem, które stanowi istotny wkład w obszar reprezentowanej przez Habilitantkę dyscypliny nauki i spełnia wymogi art. 16, ustęp 1 i 2 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Ocena pozostałego dorobku naukowo - badawczego

Dorobek naukowy Pani dr Renaty Orłowskiej, z pominięciem sześciu prac stanowiących osiągnięcie naukowe, to **26** oryginalnych prac. Większość z nich znalazła się w czasopiśmie znajdujących się w bazie JCR. Dziesięć z nich zostało opublikowanych przed doktoratem z czego cztery z IF od **0,651 do 3,232 (IF sumaryczny=5,772)** a szesnaście po doktoracie (**49,027**). Łączny IF = **81,841** co świadczy o bardzo wysokim poziomie prezentowanych prac.

Analizując dorobek naukowy Habilitantki należy zwrócić uwagę na regularność publikacyjną swoich prac z przerwami wynikającymi z wykorzystywaniem urlopu macierzyńskiego i wychowawczego w latach **2007-2008 i 2010-2013**, łącznie **4 lata i 2 miesiące**. Działalność naukowa związana była (i jest w dalszym ciągu) z osobą prof. dr hab. Piotra Bednarka oraz prof. dr hab. Janusza Zimnego, który był promotorem w przewodzie doktorskim Habilitantki.

Tematyka wszystkich prac dr Renaty Orłowskiej jest ze sobą powiązana i można w niej wyróżnić dwa okresy:

- przed doktoratem - widać wyraźny rozwój w kierunku opracowywania map genetycznych, głównie żyta, doskonalenie technik markerowania, takich jak AFLP czy RAPD aby w końcowym etapie rozpocząć badania związane z kulturami in vitro i zmiennością somaklonalną, również jęczmienia, a tematyka badawcza dotyczyła głównie badań związanych z: genem karłowatości ds1 u żyta (*Secale cereale* L.), genową cytoplazmatyczną męską sterility Pampa u żyta, identyfikacją zmian genetycznych w nasionach żyta odmiany Dańkowskie Złote wywołanych naturalnym starzeniem się a także w badaniach dotyczących określenia wpływu substancji chemicznych (genotoksycznych) na organizmy wodne;

- po doktoracie - poszerzanie warsztatu badawczego o nowe techniki, jak na przykład metAFLP czy RP HPLC oraz narzędzia projektowania eksperymentów (metoda Teguchi'ego) i

analizy danych (SEM) na przykładzie wybranych gatunków: jęczmień, pszenżyto, pszenica. Materiał badawczy pochodził z regeneracji w kulturach in vitro na drodze androgenyzy jak i somatycznej embriogenezy a czynnikami abiotycznymi były między innymi jony miedzi i srebra oraz czas przebywania eksplantatów w kulturze.

Dodatkowo, Habilitantka uczestniczyła w: badaniach poświęconych stresowi suszy dotykającemu rośliny zbożowe (parametry biometryczne, fizjologiczne, biochemiczne, biofizyczne oraz elektroforetyczne), badaniach elementów mobilnych (retrotranspozony i transpozony DNA).

Poza gatunkami roślin zbożowych Habilitantka brała udział w badaniach takich gatunków, jak: *Polyscias filicifolia* (współpraca z dr n. farm. Anitą Śliwińską z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego) czy miskant chiński (współpraca z dr Włodzimierzem Majtkowskim z Ogrodu Botanicznego w Bydgoszczy).

Przedstawione opracowanie osiągnięcia naukowego jest wyborem prac najlepiej opisujących ową aktywność. Za największe osiągnięcia przedstawionej dokumentacji uważam opisanie faktu, że:

- zastosowany sposób optymalizacji z wykorzystaniem metody Taguch'iego ogranicza liczbę niezbędnych eksperymentów oraz jest skutecznym narzędziem w procesach optymalizacyjnych;
- poziom różnic genetycznych i epigenetycznych między roślinami donorowymi i regenerantami, wyrażony jako TCIV, można zwiększyć lub zmniejszyć poprzez modyfikację takich składników pożywek indukujących jak CuSO_4 i AgNO_3 oraz czas inkubacji pylników oraz niedojrzałych zarodków zygotycznych na pożywkach indukcyjnych;
- w analizie danych uzyskanych w wyniku prowadzenia kultur in vitro do weryfikacji hipotez i określania zależności między zmiennymi z powodzeniem można wykorzystać analizę mediacji. Nowością było określenie powiązań między SV, DNMV i DMV oraz jonami Cu^{2+} i Ag^+ ;
- możliwe jest badanie procesów genetycznych, epigenetycznych czy biochemicznych wykorzystując zdefiniowany model biologiczny regeneracji roślin, ilościową ocenę zmienności indukowanej in vitro z wykorzystaniem markerów DNA oraz licznych metod statystycznych pozwalających na przedstawienie zjawiska w formie modeli.

Podsumowując, podejście bazujące na specjalnie przygotowanym modelu biologicznym, metodzie optymalizacyjnej Taguchi'ego, systemie ilościowej oceny zmienności indukowanej w kulturach in vitro i zaawansowanych metodach statystycznych może być z powodzeniem stosowane do jednoczesnej optymalizacji **wielu czynników** wpływających na kultury in vitro.

Habilitantka, zgodnie z przedstawioną dokumentacją, przed uzyskaniem stopnia doktora była dwukrotnie (2005, 2006 – każde po 9 miesięcy) laureatką stypendium w ramach funduszu stypendialnego dla uczestników studiów doktoranckich Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z Europejskiego Funduszu Strukturalnego i Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego oraz głównym wykonawcą w granie promotorskim.

Po uzyskaniu stopnia doktora uczestniczyła razem w sześciu projektach, z czego w trzech jako wykonawca/główny wykonawca a w trzech była kierownikiem projektu (Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi; MINIATURA 2, NCN; temat statutowy - Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin-PIB).

Powyższe dane uzupełniają informacje o przedstawieniu **21** plakatów na konferencjach z czego 10 na konferencjach zagranicznych.

Ocena współpracy międzynarodowej, działalności dydaktycznej i organizacyjnej habilitantki

Na szczególną uwagę zasługuje roczny pobyt w John Innes Centre w Norwich Research Park w Wielkiej Brytanii (2003/2004) w ramach programu Marie Curie Training Site Fellowship FP5. Współpraca z dr Robertem Koebnerem zaowocowała dwoma wspólnymi publikacjami oraz czterema posterami prezentowanymi na konferencjach naukowych.

Habilitantka należała do komitetu organizacyjnego, międzynarodowej konferencji organizowanej przez Ogród Botaniczny - Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej Polskiej Akademii Nauk (OB-CZRB PAN) w Powsinie (2002). Jest także członkiem Polskiego Towarzystwa Botanicznego (PTB) oraz brała czynny udział w pracach komisji restrukturyzacyjnej IHAR-PIB w roku 2019.

Dr Renata Orłowska uczestniczyła w wybranych kursach i szkoleniach związanych z prowadzonymi pracami badawczymi. Co więcej, odbyła dwusemestralne studia podyplomowe: „Diagnostyka w Ochronie Roślin” na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa (2005-2006).

Za swoją działalność naukową została dwukrotnie uhonorowana Nagrodą I stopnia Dyrektora IHAR-PIB za osiągnięcia naukowe, w tym publikacje wydane w 2014 i 2017 roku w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, otrzymała nagrodę Dyrektora IHAR-PIB – za wyróżnienie pracy doktorskiej (2009) a także otrzymała wyróżnienie Dziekana Wydziału Biologii, Uniwersytetu Warmińsko Mazurskiego w Olsztynie (2008).

Do działalności dydaktycznej można zaliczyć współprowadzenie ćwiczeń z Toksykologii w trakcie studiów doktoranckich (2002-2006) w Katedrze Biotechnologii w Ochronie Środowiska na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa UWM.

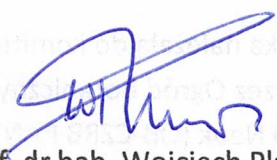
Doktor Orłowska była promotorem pomocniczym w zakończonym nadaniem stopnia doktora przewodzie doktorskim mgr Joanny Machczyńskiej - IHAR-PIB w Radzikowie (2016) i obecnie jest promotorem pomocniczym w otwartym przewodzie doktorskim mgr inż. Katarzyny Anny Pachoty (2019 – w toku).

Habilitantka była również opiekunem miesięcznego wyjazdu badawczego studenta - doktoranta (2019)

W dorobku Habilitantki nie zabrakło również działalności popularyzatorskiej nauki do której zaliczyć można autorstwo dwóch artykułów popularno-naukowych z zakresu genotoksyczności oraz zastosowania technik molekularnych w akwakulturze potwierdzone załącznikami (4,II.1.a.5 i 9).

Konkluzja

Podsumowując, stwierdzam, że osiągnięcie naukowe oraz pozostała aktywność naukowa, dydaktyczna, organizacyjna oraz popularyzująca naukę dr inż. Renaty Orłowskiej spełniają wymogi określone w art. 219 ust.1 pkt 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz 1668 z późn. zm.). W związku z tym, **pozytywnie opiniuję wniosek** o nadanie dr inż. Renacie Orłowskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.


prof. dr hab. Wojciech Płader

