

Warszawa, 23.08.2022 r.

Prof. dr hab. Anna Mięka
Polska Akademia Nauk Ogród Botaniczny – CZRB w Powsinie
ul. Prawdziwka 2
02-973 Warszawa

**Ocena osiągnięcia naukowego i pozostałej aktywności naukowej
Pani dr inż. Renaty Orłowskiej
w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego**

1. Podstawa formalna oceny

Podstawę formalną sporządzenia recenzji stanowi pismo nr WBIB-DZ.6360.1.2022 z dnia 7 lipca 2022 r. podpisane przez dr hab. Monikę Szczecińską, prof. ucz., Sekretarza Komisji Habilitacyjnej. Pismo informuje o decyzji Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne w Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie, która w dniu 23 czerwca 2022 r. powołała komisję habilitacyjną i powierzyła mi funkcję recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania dr inż. Renacie Orłowskiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Recenzję sporządziłam w oparciu o wymagania prawne zawarte w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.). Postępowanie w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego zostało wszczęte w dniu 14 marca 2022 r.

Do oceny przedstawiono następujące materiały: wniosek Kandydatki; dane osobowe wnioskodawcy (zał. 1); poświadczona kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora (zał. 2); autoreferat przedstawiający opis kariery zawodowej oraz istotnej aktywności naukowej (zał. 3); wykaz osiągnięć naukowych (zał. 4); publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego wraz z oświadczeniami współautorów (zał. 5); kopie dokumentów potwierdzające określone osiągnięcia naukowe (zał. 6). Powyższe dokumenty zostały przygotowane po polsku i po angielsku według formalnych wymogów zawartych w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym. Z załączonej dokumentacji wynika, że Kandydatka nie ubiegała się wcześniej o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Opinia, obok charakterystyki sylwetki naukowej, obejmuje następujące elementy składające się na dorobek naukowy Habilitantki: ocenę osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem postępowania habilitacyjnego, ocenę pozostałych osiągnięć naukowych oraz aktywności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej.

2. Sylwetka Habilitantki

Pani dr Renata Orłowska jest absolwentką Wydziału Biologii, kierunku Biotechnologia, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (UWM), gdzie w 2001 r. uzyskała tytuł magistra biologii. Pracę magisterską pt. „Identyfikacja markerów molekularnych AFLP potencjalnie sprzężonych z recesywnym genem karłowatości *ds1* u żyta (*Secale cereale* L.)” wykonywała w Ogródku Botanicznym – CZRB PAN (obecnie: PAN OB-CZRB w Powsinie) pod kierunkiem dr hab. Heleny Kubickiej. Podstawą uzyskania stopnia doktora była rozprawa pt. „Analiza zmienności somaklonalnej i gametoklonalnej, na poziomie DNA, u jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)”. Pracę doktorską Habilitantka wykonywała w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - PIB (IHAR-PIB) w Radzikowie pod kierunkiem prof. dr hab. Janusza Zimnego, zaś stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii, genetyki molekularnej, został Jej nadany w 2008 r. uchwałą Rady Wydziału Biologii UWM.

Po ukończeniu studiów dr R. Orłowska pracowała przez rok na stanowisku biologa w Pracowni Taksonomii Molekularnej PAN OB-CZRB w Powsinie. W okresie od listopada 2003 r. do października 2004 r. Habilitantka odbyła roczny staż naukowy w Norwich Research Park w Wielkiej Brytanii, gdzie realizowała badania w zakresie identyfikacji zmienności somaklonalnej jęczmienia. W latach 2002-2006 podjęła studia doktoranckie w UWM w Olsztynie. Po ich ukończeniu została zatrudniona w IHAR-PIB, gdzie pracowała początkowo na stanowisku asystenta, a od 2007 r. do chwili obecnej jako adiunkt. Aktywność naukowa była zatem realizowana przez Habilitantkę w więcej niż jednej instytucji naukowej, co spełnia kryterium art. 219 ust. 1 pkt. 3 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

3. Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego przedmiot postępowania habilitacyjnego pt. „Jony miedzi i srebra w pożywkach kultur *in vitro* jęczmienia i pszenżyta a zmienność (epi)genetyczna i wydajność regeneracji roślin zielonych”

W skład osiągnięcia naukowego dr inż. Renaty Orłowskiej wchodzi sześć oryginalnych, doświadczalnych prac opublikowanych w latach 2020-2022 w czasopiśmie indeksowanym w bazie Journal Citation Reports (JCR). Habilitantka jest pierwszym autorem w pięciu z nich, w trzech jest autorem korespondencyjnym. Prace ukazały się w bardzo dobrych czasopiśmie naukowych o międzynarodowym zasięgu, których współczynnik oddziaływania IF (zgodny z rokiem opublikowania prac) mieści się w przedziale **1,889 - 6,6**. Ich sumaryczny **5-letni IF wynosi 30,664** (a zgodny z rokiem opublikowania - 27,042). Prace uzyskały **590 punktów MNiSW/MEiN**. Według bazy Scopus na dzień 3.02.2022 były one **cytowane 9 razy** (bez autocytowań). W ciągu kolejnych sześciu miesięcy ich cytacja wzrosła do **17** (23.08.2022).

Wymieniony cykl obejmuje następujące publikacje:

- 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.

Dr R. Orłowska odgrywa wiodącą rolę w powstaniu prac stanowiących osiągnięcie naukowe. Wskazują na to załączone oświadczenia, zgodnie z którymi Habilitantka uczestniczyła w tworzeniu koncepcji badań, pełniła wiodącą rolę w wykonywaniu doświadczeń, prowadzeniu analiz, opracowywaniu wyników, interpretacji danych oraz przygotowywaniu manuskryptów do opublikowania.

Pewną niekonsekwencję dostrzegam w tytule osiągnięcia naukowego, w którym **Habilitantka wymienia obiekty eksperymentalne (jęczmień i pszenżyto) oraz wskazuje, że wydajność regeneracji jest szacowana liczbą uzyskiwanych roślin zielonych.** Z lektury Autoreferatu i pracy P1 wynika, że obiektem badań była również pszenica. Z tego względu trafniejsze byłoby użycie w tytule określenia „wybranych roślin zbożowych”. Rośliny zielone (nie albinotyczne) są podstawowym problemem regeneracji drogą androgenezy, co zostało podkreślone w Autoreferacie i publikacjach. W przypadku regenerantów pozyskiwanych innymi drogami regeneracji, w tym somatycznej embriogenezy (SE), problem roślin albinotycznych nie występuje, stąd nie stosuje się w odniesieniu do ich regenerantów terminu „rośliny zielone”. Tytuł osiągnięcia nie oddaje więc w pełni przeprowadzonych badań.

Patrząc z perspektywy sześciu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe można by zasugerować inną definicję jego celu, mniej rozbudowaną, sformułowaną bardziej ogólnie i kładącą nacisk na zastosowane metody. W mojej opinii mógłby on brzmieć: „**celem osiągnięcia naukowego** było oszacowanie możliwości wykorzystania metody Taguchiego, techniki metAFLP oraz narzędzi statystycznych do planowania doświadczeń i oceny wpływu określonych parametrów prowadzenia kultury in vitro na efektywność regeneracji wybranych roślin zbożowych i zmienność (epi)genetyczną uzyskanych regenerantów”. Habilitantka podkreśla tu cyt. „bazowanie na jednym odpowiednio dobranym modelu biologicznym wyprowadzania regenerantów”. W praktyce modele są dwa. Jeden bazuje na regeneracji drogą androgenezy, drugi SE. Wydaje się, że jest to nieprecyzyjne określenie modelu eksperymentalnego, pozwalającego na indukowanie procesu regeneracji roślin w jednakowych warunkach kultury.

Przedstawiony cykl publikacji jest spójny tematycznie, ich tytuły są informatywne, a cele postawione poprawnie. Obiektem badań jest jęczmień (*Hordeum vulgare* L.) odmiana Spring linia NAD2 (P1, P2, P3, P5 i P6) i pszenżyto ozime pochodzące z krzyżówki cv. Mungis × cv. Presto (x *Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus 1927; P1, P4). Są to dobrze opracowane i poznane modele eksperymentalne, stosowane od wielu lat w IHAR PIB w Radzikowie. Ponadto, w pracy P1 obiektem doświadczeń była pszenica (*Triticum aestivum* L.), której nie użyto w dalszych badaniach ze względu na to, że wyższe stężenie (60 μM) AgNO₃ hamowało tworzenie embriogenicznego kalusa. Rośliny jęczmienia były regenerowane w kulturze pylników drogą androgenezy (P1, P2, P3) lub somatycznej embriogenezy (P5, P6), zaś pszenżyta tylko poprzez androgenezę (P4). W kulturze jęczmienia (niezależnie od drogi regeneracji) wykorzystano następujące pożywki: 1) indukcyjną N6L uzupełnioną 2 mg/l 2,4-D, 0,5 mg/l NAA i 0,5 mg/l kinetyny, następnie 2) regeneracyjną K4NB uzupełnioną 0,225 mg/l BAP i na końcu 3) ukorzeniającą N6I zawierającą 2 mg/l NAA. Jakkolwiek w przypadku somatycznej embriogenezy (w wyniku której powstają kompletne rośliny, niewymagające ukorzeniania) stosowanie pożywki ukorzeniającej wydaje się zbędne. W przypadku pszenżyta (i pszenicy) stosowano pożywkę 190–2 z dodatkiem 0,5 mg/l NAA i 1,5 mg/l kinetyny. Wydajność regeneracji roślin była modyfikowana poprzez dodanie do pożywki indukcyjnej CuSO₄ (w stężeniach 0,1, 5 lub 10 μM) i AgNO₃ (0, 10 lub 60 μM) oraz zastosowanie różnego czasu traktowania eksplantatów na tych pożywkach, który dla jęczmienia wynosił 21, 28 lub 35 dni, zaś dla pszenżyta 35, 42 lub 49 dni. Materiał roślinny uzyskany w tych warunkach doświadczalnych był analizowany (w P2–P6) za pomocą techniki metAFLP opracowanej i opisananej w 2007 r. przez zespół, w którego skład wchodzi m.in. dr R. Orłowska (Bednarek, Orłowska, Koebner, Zimny 2007. BMC Plant Biology).

Często stosowanym przez Habilitantkę uproszczeniem jest mówienie, że do pożywki dodawane są jony miedzi czy srebra (zamiast poprawnie: CuSO₄ i AgNO₃), co ma miejsce w pracy P3 i P6 (np. w Tab. 1), a także w Autoreferacie.

W pierwszej pracy (P1) autorzy **zastosowali metodę Taguchiego do zaprojektowania eksperymentu i optymalizacji trzech czynników** (tj. stężenia CuSO₄ i AgNO₃ oraz długości

etapu inicjacji kultury) dla podniesienia efektywności regeneracji roślin zielonych w kulturach pylnikowych jęczmienia, pszenżyta i pszenicy. Przeprowadzono dwa eksperymenty, z których pierwszy - optymalizacyjny pozwolił na opracowanie warunków optymalnych dla regeneracji zielonych roślin, zaś drugi – weryfikujący pozwolił na weryfikację zoptymalizowanych warunków liczbą uzyskanych regenerantów. **Zastosowana metoda Taguchiego pozwoliła na określenie optymalnych warunków niezbędnych do zwiększenia produkcji zielonych roślin i ograniczenia liczby testowanych wariantów doświadczalnych** (z 27 do 9, dla trzech czynników testowanych na trzech poziomach każdy). Zamiast stosowanych zazwyczaj powtórzeń biologicznych usunięto wartości odstające i wykorzystano statystykę do przewidzenia warunków kultury *in vitro* optymalnych dla badanego procesu androgenezy. **Metoda dała pozytywne rezultaty dla testowanych gatunków, co wskazuje na wysoką skuteczność zaproponowanego podejścia do planowania eksperymentów. Ponadto, badania wykazały, że wraz ze wzrostem liczby zielonych roślin zmniejsza się liczba podwojonych haploidów (DH).**

Celem drugiej pracy (P2) było oszacowanie czy zmienność indukowana kulturami *in vitro* może być regulowana poprzez różne stężenia składników dodawanych do pożywki oraz czasem regeneracji roślin na pożywkę inicjalnej. Dla osiągnięcia tego celu wykorzystano metodę Taguchiego do optymalizacji doświadczenia w kierunku uzyskania regenerantów charakteryzujących się minimalnym i maksymalnym poziomem zmienności sekwencyjnej i metylacyjnej w stosunku do roślin-dawców. Zastosowano metodę metAFLP dla szacowania zmian w sekwencjach symetrycznych (CG i CHG; H=A, C lub T) i asymetrycznych (CHH), w jakich lokuje się metylowana cytozyna. Zmiany te oszacowano jakościowo i ilościowo określając zmienność sekwencyjną, demetylację i metylację *de novo* DNA. **Nie zgodzę się z interpretacją Habilitantki przedstawioną na str. 11 Autoreferatu, że praca P2 dotyczy cyt. „Optymalizacji warunków indukowania androgenezy i regeneracji jęczmienia...”, gdyż wyniki tych badań nie zostały tu przedstawione. Raczej powinno się mówić o: „optymalizacji warunków doświadczenia”.** Na szczególne podkreślenie zasługuje precyzyjne wybranie rośliny będącej dawcą eksplantatów: jeden osobnik otrzymany drogą androgenezy, będący podwojonym haploidem, po jednym procesie samozapylenia, z zaledwie 5,75% i 2,01% polimorficznych loci metAFLP związanych odpowiednio ze zmianami metylacji i sekwencji DNA. **Osiągnięciem tej pracy jest wykazanie, że liczba różnic (epi)genetycznych pomiędzy dawcą a regenerantem może być modyfikowana za pomocą parametrów kultury, oraz że metoda metAFLP jest wystarczająco czuła do analizowania nawet blisko spokrewnionych gatunków oraz regenerantów pochodzących z kultur *in vitro*. Zastosowane podejście pozwoliło na identyfikację subtelných zdarzeń metylacyjnych wpływających na genom roślinny podczas regeneracji roślin *in vitro*.**

Analizy przeprowadzone w pracy P3 pogłębiły wiedzę na temat zależności pomiędzy demetylacją DNA, metylacją *de novo*, zmiennością sekwencyjną a zastosowanymi w androgenezie jęczmienia modyfikacjami parametrów kultury. **Do interpretacji wyników włączono analizę moderowanej mediacji.** Badania wykazały, że rolę mediatora (czynnika pośredniczącego) demetylacji w sekwencjach CG pełnią dodawane do pożywki: CuSO₄ i AgNO₃, zaś działanie tych substancji jest zależne od czasu trwania kultury (moderator). Zastosowana analiza pokazała, że w określonych warunkach kultury demetylacja w sekwencji CG może przyczyniać się do powstawania zmienności sekwencyjnej. Autorzy przedyskutowali możliwy wpływ działania jonów miedzi i srebra na szlaki biochemiczne powiązane ze zmiennością indukowaną kulturami *in vitro*.

W pracy P4 autorzy wykorzystali całą dotychczasową wiedzę i umiejętności stosowania narzędzi statystycznych dla udokumentowania zmienności indukowanej kulturami *in vitro*, tym

razem zachodzącej u pszenżyta regenerowanego drogą androgenyzy. Z użyciem techniki metAFLP oszacowano poziom zmienności sekwencyjnej, demetylacji i metylacji *de novo* DNA, scharakteryzowano zmienność w sekwencjach symetrycznych (CG i CHG) i asymetrycznych (CHH). Stosując analizę mediacji oceniono zależności pomiędzy badanymi zmiennymi wpływającymi na efektywność regeneracji zielonych roślin pszenżyta. W pracy skupiono się na potwierdzeniu postawionej hipotezy, że jony miedzi i srebra w pożywce indukującej kulturę pylników pszenżyta (podobnie jak u jęczmienia) mogą wpływać na łańcuch transportu elektronów jako ostatniego etapu oddychania oraz na cykl Yanga, w wyniku którego produkowana jest metionina (będąca substratem w biosyntezie etylenu). **Ostatecznie nie wykazano zależności między stężeniem AgNO_3 a poziomem zmian sekwencyjnych i metylacyjnych, jak również wpływu czasu kultury inicjalnej na ich występowanie.** Praca P4 jako jedyna wśród ocenianych zawiera fotografie dokumentujące przebieg androgenyzy.

Prace P5 i P6 skupiają się stricte na analizie regenerantów jęczmienia uzyskanych drogą somatycznej embriogenezy (SE) pod kątem zmienności (epi)genetycznej modyfikowanej warunkami kultury określonymi w P1. Z wykorzystaniem metody Taguchiego zoptymalizowano warunki doświadczenia w kierunku pozyskania regenerantów o minimalnym i maksymalnym poziomie zmienności indukowanej kulturą *in vitro* w odniesieniu do rośliny donorowej uzyskanej drogą androgenyzy. Analiza skupień przedstawiona w pracy P5 wykazała, że jednorodność genetyczna i epigenetyczna roślin-dawców sięgała nawet 100%. Habilitantka wykazała pozytywną zależność pomiędzy wzrostem stężenia CuSO_4 w pożywce a poziomem indukowanej zmienności i jej składowych (zmienności sekwencyjnej, demetylacji DNA i metylacji *de novo*). Główne zmiany wyróżniające optymalne warunki należały do zdarzeń demetylacji DNA (zarówno w eksperymentach optymalizacyjnych, jak i weryfikacyjnych) ze szczególnym naciskiem na sekwencje CHG. W dyskusji autorka podejmuje rozważania i wskazuje prawdopodobne przyczyny tego zjawiska. Do interpretacji wyników włączono analizę moderowanej mediacji, która wskazała rolę jonów miedzi jako mediatora zmienności sekwencji CHG. Autorzy sugerują, że jony miedzi wpływają na mitochondrialny łańcuch oddechowy, a tym samym na produkcję ATP oraz na cykl Yanga. Ponadto jony miedzi biorąc udział w utlenianiu metylowanych cytozyn, mogą tą drogą indukować mutacje. **Szkoda, że Habilitantka nie przedstawiła w pracy P5 rezultatów wpływu badanych warunków kultury na efektywność SE jęczmienia, co z punktu widzenia niewielu prac na ten temat byłoby bardzo wartościowe.**

Reasumując stwierdzam, że wyniki zawarte w 6 publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe niosą nowe, wartościowe informacje wzbogacające nasze zrozumienie zmienności indukowanej *in vitro*. Ten rodzaj zmienności jest często obserwowany w kulturach różnych gatunków roślin, otrzymywanych różnymi drogami regeneracji. Mimo, że samo zjawisko można uznać za powszechnie występujące, to jego mechanizm jest nadal słabo poznany. Dr R. Orłowska wdrażając metodę Taguchiego (opracowaną i stosowaną dla procesów technologicznych takich jak fermentacja, przetwarzanie żywności, oczyszczanie ścieków i bioremediacja) do eksperymentów nad roślinami zaproponowała nowoczesne podejście projektowania wieloczynnikowych doświadczeń, które sprawdziło się u jęczmienia i pszenżyta. Dalsze testowanie tego podejścia może pomóc w uproszczeniu i usprawnieniu eksperymentów, które są praco-, koszto- i czasochłonne, a często również ograniczone ilością dostępnego materiału roślinnego. **Jako recenzent pozytywnie oceniam przełamywanie standardów i poszukiwanie nowoczesnych narzędzi badawczych, co jest gwarancją postępu naukowego.** Takim podejściem wykazała się dr R. Orłowska wybierając do swoich badań metodę dotychczas niewykorzystywaną dla obiektów roślinnych. Dzięki temu wyznaczyła nowy trend prowadzenia doświadczeń, przetestowała go i wykazała zasadność stosowania w badanej grupie roślin. Zbudowany przez Habilitantkę model eksperymentalny pozwolił na weryfikację powiązań między zmiennością indukowaną kulturą *in vitro* a

wydajnością regeneracji roślin i ich oddziaływania na sekwencje nukleotydowe DNA w miejscach lokalizacji metylowanej cytozyny.

Prace są ze sobą powiązane tematycznie i stanowią spójną całość. Zostały opublikowane w wysoko punktowanych czasopismach naukowych. Ich cytacja stopniowo wzrasta, co świadczy o zainteresowaniu zainicjowaną tematyką. O dojrzałości dr R. Orłowskiej świadczy wybór zagadnienia, zaplanowanie eksperymentów, opracowanie warunków modelu eksperymentalnego, zdobycie funduszy na realizację części doświadczeń (projekt MINIATURA 2, NCN), wykonanie badań i ich wnikliwa analiza. **Mimo krytycznych uwag zawartych w recenzji uważam, że przedstawione osiągnięcie naukowe stanowi znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne i spełnia wymagania habilitacyjne.**

4. Ocena pozostałego dorobku naukowego

Przed uzyskaniem stopnia doktora zainteresowania naukowe Habilitantki koncentrowały się wokół badań nad żytem i jęczmieniem. Zainicjował je staż naukowy, który dr R. Orłowska odbyła po III roku studiów w Pracowni Taksonomii Molekularnej PAN OB-CZRB w Powsinie. Dzięki niemu opanowała i rozwinęła nowe techniki analizy molekularnej materiału roślinnego oraz poznała problemy dotyczące genetyki żyta realizowane w Ogrodzie Botanicznym. Początkowo badania skoncentrowała na genie karłowatości *ds1* żyta (praca magisterska), potem na problemie genowej cytoplazmatycznej męskiej sterility Pampa u żyta oraz identyfikacji zmian genetycznych w nasionach żyta wywołanych naturalnym starzeniem podczas wieloletniego ich przechowywania w banku genów. Głębiej skupiła się na poznaniu przyczyn zmienności somaklonalnej i gametoklonalnej na poziomie DNA u jęczmienia. Dla ich opisanie wykorzystwała **wariant techniki molekularnej AFLP (metAFLP), w którego rozwinięciu brała udział, pozwalający na jednoczesne szacowanie występowania zmienności sekwencji i metylacji DNA.** Wyniki tych badań, opisane w 2007 r. w czasopiśmie BMC Plant Biology, stanowią najlepiej cytowaną publikację w dorobku dr R. Orłowskiej (**127 razy wg Google Scholar; 93 wg bazy Scopus**). Na realizację doświadczeń, które doprowadziły do uzyskania stopnia doktora, część środków pozyskała w postaci grantu promotorskiego z MNiSW. Oprócz dominującego nurtu badań związanego silnie z roślinami zbożowymi, Habilitantka w czasie studiów doktoranckich uczestniczyła także w pracach związanych z organizmami wodnymi i genotoksycznością.

Przed uzyskaniem stopnia doktora powstało 10 prac, wśród których co najmniej 5 zostało opublikowanych w czasopismach indeksowanych w bazie JCR. Dane bibliometryczne zamieszczone w wykazie osiągnięć naukowych Habilitantki są niekompletne. W przypadku części publikacji dr R. Orłowska nie uwzględniła bowiem współczynnika IF i punktów MNiSW mimo, że czasopisma je posiadają, np. *Acta Biologica Cracoviensia ser. Botanica* z 2005 r. IF=0,368, MNiSW=10. **Sumaryczny IF** prac opublikowanych w tym okresie jest więc wyższy niż podany w opracowanych materiałach i wynosi (co najmniej) **6,14** (a nie 5,772), a liczba punktów MNiSW = **62** (nie 52).

Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka opublikowała 16 prac o sumarycznym **IF=49,027 i punktach MNiSW=1060**. W pracach tych 3 razy była pierwszym autorem i 2 razy autorem korespondencyjnym.

Po uzyskaniu stopnia doktora zainteresowania dr R. Orłowskiej skupiły się wokół odpowiedzi roślin zbożowych na stropy abiotyczne. W tym okresie brała czynny udział w badaniach nad stresem suszy, których efektem było scharakteryzowanie obszernego materiału roślinnego pszenicy jarej pod kątem odporności dostępnych odmian i linii na suszę. Badania te obejmowały opisanie parametrów biometrycznych, fizjologicznych, biochemicznych, biofizycznych i genetycznych, dzięki czemu Habilitantka poznała szereg metod badawczych. Ponadto kierując zadaniem realizowanym w ramach programu Postęp Biologiczny w

Produkcji Roślinnej (finansowanego ze środków MRiRW) przyczyniła się do scharakteryzowania elementów mobilnych (retrotranspozonów i transpozonów DNA) pojawiających się w regenerantach jęczmienia jarego jako efekt prowadzenia kultur *in vitro*.

Wraz ze współpracownikami dopracowała metodę metAFLP, którą następnie wykorzystywała do zrealizowania badań i opublikowania cyklu prac stanowiących wyodrębnione osiągnięcie habilitacyjne. W opisywaniu profili DNA Habilitantka wykorzystywała technikę MSAP, a zaproponowane rozwiązanie usprawniło metodykę pozwalając na szacowanie całkowitych zmian w przypadku różnego umiejscowienia metylowanej cytozyny, włączając demetylację DNA i metylację *de novo* z jednoczesną dyskryminacją sekwencji CG lub CHG. Warsztat pracy związany z badaniem wpływu kultur tkankowych na regeneranty poszerzyła także o inne techniki molekularne takie jak: DArTseqMet oraz ATR-FTIR.

Uzyskane doświadczenie i rozwinięty warsztat badawczy w zakresie analizowania zmienności (epi)genetycznej Habilitantka wykorzystywała współpracując z innymi badaczami z IHAR PIB oraz innymi ośrodkami naukowymi w Polsce np. Warszawskim Uniwersytetem Medycznym nad *Polyscias filicifolia* - rośliną ważną leczniczo, czy Ogrodem Botanicznym w Bydgoszczy nad miskantem chińskim. W badaniach tych skupiała się przede wszystkim na szacowaniu poziomu zmienności indukowanej w kulturach *in vitro*. Efektem tej współpracy są wspólne publikacje, które ukazały się w wysoko punktowanych czasopismach m.in. *International Journal of Molecular Science*, czy *Cells*.

Uczestniczyła również w badaniach nad stosowaniem czynników antymitotycznych w celu poprawienia efektywności produkcji podwojonych haploidów u jęczmienia oraz wpływu światła na proces androgenezy u tego gatunku.

Swoje doświadczenie w zakresie stosowania metod molekularnych w analizie roślin dr R. Orłowska wykorzystywała publikując jako współautorka dwie prace przeglądowe, które ukazały się w Biuletynie IHAR.

W podsumowaniu stwierdzam, że pozostały dorobek naukowy Habilitantki jest merytorycznie istotny, dobrze opublikowany i cytowany. To wskazuje na dostateczne opanowanie warsztatu naukowego pozwalającego na samodzielne prowadzenie badań i nawiązywanie współpracy, którą w ostatnich latach coraz chętniej podejmuje. Dzięki temu doświadczenie i dorobek naukowy dr R. Orłowskiej poszerzyły się o wiedzę nt. innych, nie będących zbożami, roślin. Warto zaznaczyć, że w powstaniu publikacji wieloautorskich Habilitantka ma swój ważny wkład merytoryczny. **Podsumowując dane parametryczne całości dorobku naukowego** (osiągnięcie naukowe i pozostały dorobek) należy stwierdzić, że składa się on w sumie z 32 publikacji. Cztery z nich stanowią prace przeglądowe opublikowane w polskojęzycznych czasopismach. W 9 pracach Kandydatka była pierwszym autorem, w pięciu – autorem korespondencyjnym. Sumaryczny IF tych prac = **82,209**, liczba punktów MNiSW/MEiN = **1712**, liczba cytowań (bez autocytowań) = **210**, Indeks Hirscha = **8**.

5. Aktywność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzatorska

5.1. Aktywność w zakresie kształcenia studentów i kadry naukowej

Przed uzyskaniem stopnia doktora, będąc uczestnikiem studiów doktoranckich, Habilitantka uczestniczyła w prowadzeniu ćwiczeń z Toksykologii na Wydziale Ochrony Środowiska i Rybactwa UWM. Przedstawiła również seminarium dotyczące badań nad zmiennością somaklonalną u jęczmienia w IHAR-PIB w Radzikowie.

Po uzyskaniu stopnia doktora, dr R. Orłowska jako pracownik instytucji naukowej nieprowadzącej zajęć ze studentami, aktywność dydaktyczną wypełniała raczej sporadycznie. W 2021 r. przedstawiła 3 wykłady: 1 na seminarium dla studentów SGGW, 2 w ramach seminariów dla pracowników IHAR-PIB. Była promotorem pomocniczym w zakończonym w 2016 r. nadaniem stopnia doktora przewodzie doktorskim mgr Joanny

Machczyńskiej. Obecnie jest promotorem pomocniczym w otwartym przewodzie doktorskim mgr inż. Katarzyny Pachoty. W 2021 r. była opiekunem miesięcznego wyjazdu badawczego doktoranta.

5.2. Udział w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencjach

Brała udział w organizacji międzynarodowej konferencji naukowej (25-29.09.2002 r., Warszawa). Przed uzyskaniem stopnia doktora wzięła czynny udział w 11 konferencjach naukowych (w tym 3 odbyły się poza granicami Polski), po uzyskaniu stopnia doktora w 10 (w tym 7 poza granicami Polski).

5.3. Aktywność popularyzatorska i społeczna

Opublikowała 2 artykuły o charakterze popularnonaukowym. t członkiem Polskiego Towarzystwa Botanicznego. W 2019 r. brała udział w pracach komisji restrukturyzacyjnej IHAR-PIB.

5.4. Kierownictwo i udział w projektach badawczych

Przed uzyskaniem stopnia doktora była głównym wykonawcą grantu promotorskiego przyznanego w konkursie MNiSW oraz dwóch stypendiów (9-miesięcznych) przyznawanych dla uczestników studiów doktoranckich UWM w Olsztynie z Europejskiego Funduszu Strukturalnego i Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego.

Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka była kierownikiem projektu NCN: MINIATURA w ramach którego badała poziom metylacji DNA u regenerantów jęczmienia w oparciu o metodę DArTseq-met.

Kolejny projekt, którym kierowała (5-letni) został przyznany przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w programie „Postęp Biologiczny w Produkcji Roślinnej” i dotyczył molekularnej charakterystyki wpływu elementów mobilnych na zmienność genetyczną w zbożowych kulturach in vitro. W dwóch innych projektach tego programu była głównym wykonawcą lub wykonawcą.

Ponadto, była wykonawcą w projekcie NCN, realizowanym w latach 2011-2015, w którym podjęto się opracowania metody oceny efektywności wykorzystania wody przez jednoliścienne rośliny uprawne.

5.5. Odbyte staże w instytucjach naukowych

Przed uzyskaniem stopnia doktora odbyła 2 dwutygodniowe staże szkoleniowe (w PAN OB-CZRB w Powsinie oraz w IHAR-PIB w Radzikowie). Po doktoracie odbyła staż w Uniwersytecie Rzeszowskim, który pozwolił jej na poznanie techniki FTIR.

5.6. Recenzowane prace naukowe

Wykonała 6 recenzji wydawniczych prac złożonych do zagranicznych czasopism (takich jak: *Plant Cell Reports*, *Molecular Biology Reports*, *Plants*, *Forests*) oraz 1 dla czasopisma o zasięgu krajowym (Biuletyn IHAR).

5.7. Uczestnictwo w programach europejskich

Przed uzyskaniem stopnia doktora Habilitantka zrealizowała roczne stypendium naukowe (11.2003 – 10.2004) w ramach programu Marie Curie Training Site Fellowship FP5 z funduszy Unii Europejskiej. Temat: “Identification of the nature of somaclonal variation in barley”. John Innes Centre (JIC), Norwich Research Park, Wielka Brytania. Staż zaowocował długoterminową współpracą z dr Robertem Koebnerem, opublikowaniem 2 prac i zaprezentowaniem wspólnych wyników na 3 konferencjach naukowych.

5.8. Wyróżnienia i nagrody

W 2021 r. była nominowana do nagrody za wybitne osiągnięcia badawcze opublikowane w najbardziej prestiżowych czasopiśmie naukowych przyznawanej przez Wydział II Nauk Biologicznych i Rolniczych PAN.

W 2020 r. była nominowana do nagrody AgroBioTop przyznawanej przez Komitet PAN w celu wyróżnienia młodych uczonych, których dokonania z zakresu biotechnologii wnoszą istotny wkład w rozwój rolnictwa i agrobiotechnologii.

Dwukrotnie otrzymała nagrodę I stopnia Dyrektora IHAR-PIB za osiągnięcia naukowe (w 2014 i 2018 r), a w 2009 r. za wyróżnienie pracy doktorskiej.

W 2008 r. otrzymała wyróżnienie Dziekana Wydziału Biologii UWM za rozprawę doktorską.

Podsumowując stwierdzam, że w zakresie dydaktycznym, organizacyjnym i popularyzatorskim dr R. Orłowska wykazuje raczej niski poziom aktywności. Nie rzutuje to jednak w żadnym stopniu na ocenę osiągnięć naukowych Habilitantki, gdyż aktywność w tym zakresie nie jest ustawowym warunkiem koniecznym do spełnienia.

Wniosek końcowy

Przedstawiona ocena osiągnięcia naukowego i pozostałego dorobku naukowego Pani dr inż. Renaty Orłowskiej upoważnia mnie do przedłożenia komisji habilitacyjnej, powołanej 23 czerwca 2022 r. uchwałą Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne UWM w Olsztynie wniosku o uznanie osiągnięć naukowych Kandydatki za odpowiadające wymogom art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. i wnoszę o nadanie Pani dr inż. Renacie Orłowskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

prof. dr hab. Anna Mięka