

Prof. dr hab. Dariusz Grzebelus
nauki rolnicze
Instytut Biologii Roślin i Biotechnologii
Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

Recenzja osiągnięcia naukowego pt.:
„Zmienność genetyczna i ewolucja molekularna wybranych przedstawicieli rodzaju
***Colobanthus*” – cykl pięciu publikacji.**
oraz dorobku naukowego
Dr. Piotra Pawła Androsiuka
ubiegającego się o nadanie stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne

Recenzję wykonałem w związku z decyzją Rady Naukowej Dyscypliny nauki biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 25 maja 2023 roku o powołaniu mnie na recenzenta w ramach komisji habilitacyjnej w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego dr. Piotrowi Androsiukowi.

Recenzję przygotowałem w oparciu o dokumentację obejmującą:

1. Wniosek o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego;
2. Autoreferat Habilitanta;
3. Zbiór pięciu artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe pt. „Zmienność genetyczna i ewolucja molekularna wybranych przedstawicieli rodzaju *Colobanthus*”;
4. Wykaz osiągnięć naukowych Habilitanta;
5. Pozostałe załączniki do wniosku.

1. Najważniejsze fakty z życiorysu zawodowego Kandydata

Pan dr Piotr Androsiuk w roku 2003 ukończył studia magisterskie na kierunku Biologia prowadzonym na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, broniąc pracę magisterską pod tytułem „Wpływ cholanu sodu na erytrocyty świni”, przygotowaną pod opieką prof. Józefa Bielawskiego. Jest również inżynierem ogrodnictwa, który to tytuł uzyskał na wydziale Ogrodniczym Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu w roku 2004. Studia doktoranckie na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu ukończył w roku 2008, uzyskując stopień naukowy doktora nauk biologicznych, specjalność genetyka, w wyniku obrony rozprawy doktorskiej pod tytułem „Charakterystyka genetyczna europejskich populacji sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) na podstawie cech morfologicznych igieł i markerów DNA”,

której promotorem był dr hab. Lech Urbaniak, prof. UAM. W latach 2008-2011, dr P. Androsiuk pracował na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego, a następnie, od roku 2012 do chwili obecnej, na stanowisku adiunkta naukowo-dydaktycznego, najpierw w Katedrze Genetyki, a po restrukturyzacji w Katedrze Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin na Wydziale Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

2. Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe wskazane przez dr. Piotra Androsiuka jako podstawa wniosku o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego to cykl pięciu publikacji z lat 2015-2022 pod zbiorczym tytułem „Zmienność genetyczna i ewolucja molekularna wybranych przedstawicieli rodzaju *Colobanthus*”. Udział Habilitanta w przygotowaniu każdego z artykułów był wiodący; czterech artykułach był on pierwszym autorem, w czterech pełnił funkcję autora korespondującego. Deklaracje współautorów poza wskazaniem zakresu udziału w publikacjach szacują również ich procentowy udział, który zwykle (poza dwoma wyjątkami) obejmuje 5%. Uważam, że ustalenie procentowego udziału jest trudne i, jak wynika z opisanej wcześniej „standaryzacji” na poziomie 5%, mało informatywne dla oceny rzeczywistego wkładu poszczególnych autorów (moim zdaniem publikacje wieloautorskie cechują się tym, że udział każdego z autorów jest zasadniczo niezbędny). Dlatego w mojej opinii posiłkowałem się wyłącznie częścią opisową udziałów. Ich analiza pozwala mi stwierdzić, że dr P. Androsiuk pełnił wiodącą rolę na etapie formułowania koncepcji prac badawczych, prowadzenia eksperymentów i przygotowania wszystkich artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopiśmie z listy JCR, a ich sumaryczny IF wynosi 14,057. Czasopisma, do których zgłoszono manuskrypty mają zróżnicowaną, jednak na ogół wysoką renomę w dziedzinie nauk biologicznych i lokują się w Q1 (*Polar Biology*, *PeerJ*, *Scientific Reports*), Q2 (*Genes*) i Q3 (*Polish Polar Research*), wg SJR Scopus. Wszystkie manuskrypty zostały poddane krytycznej ocenie recenzentów, zgodnie ze standardami procesu peer-review. Należy również zwrócić uwagę, że pierwsze cztery artykuły wskazane jako osiągnięcie naukowe funkcjonują w obiegu naukowym, na co wskazuje stosunkowo wysoka (jak na tematykę osiągnięcia dotyczącą roślin polarnych) liczba cytowań, w zakresie od ośmiu (P3; *PeerJ* 2018) do 24 (P1; *Polish Polar Res* 2015). Jedynie ‘najmłodszy’ artykuł (P5; *Genes* 2022) nie był jeszcze cytowany.

Publikacje składające się na osiągnięcie naukowe niewątpliwie stanowią spójny cykl; dotyczą one powiązanych zagadnień obejmujących analizę zmienności genetycznej *C. quitensis* oraz analizę zróżnicowania genetycznego *Colobanthus* w oparciu o sekwencje genomów organellowych. Opisano w nich realizację następujących zadań badawczych (posiłkuję się sformułowaniami przedstawionymi w autoreferacie):

1. Analiza zmienności genetycznej *C. quitensis* z Wyspy Króla Jerzego (Szetlandy Południowe) z lokalizacji zróżnicowanych pod względem edaficznym i mikrosiedliskowym

W badaniach raportowanych w publikacji P1 (*Polish Polar Res* 2015) wykorzystano osiem populacji *C. quitensis* z lokalizacji o zróżnicowanych warunkach mikrosiedliskowych. Ich zmienność genetyczną oceniono w oparciu o technikę iPBS wykorzystującą reakcję PCR ze starterami zakotwiczonymi w konserwatywnych rejonach PBS typowych dla retrotranspozonów LTR. Markery takie mają zatem z założenia powielać fragmenty pomiędzy różnymi kopiami retrotranspozonów LTR. W mojej opinii powielane produkty jednak mają zasadniczo charakter arbitralny, ponieważ standardowo nie przeprowadza się weryfikacji ich faktycznego pochodzenia. Istnieje wiele doniesień wskazujących, że ta technika generuje polimorficzne amplikony, jej niewątpliwą zaletą jest techniczna prostota i możliwość wykorzystania w badaniach gatunków i niepoznanej sekwencji genomu. Uważam, jednak, że wiele (jeśli nie większość) produktów amplifikacji iPBS to w rzeczywistości fragmenty niespecyficzne, a szczególnie dotyczy to krótkich produktów (w publikacji nie ma informacji o wielkości amplikonów). Rejony PBS są zlokalizowane w części wewnętrznej retrotranspozonów, zatem produkty amplifikacji powinny obejmować LTRy obu sąsiadujących kopii retrotranspozonów, z których każdy ma zwykle przynajmniej kilkaset nukleotydów długości. W publikacji wskazano również, że startery wykorzystywano pojedynczo lub w parach, ale zbiorcze wyniki przedstawiono tylko dla pojedynczych starterów (tabela 2). Nie kwestionuję wyników analizy zróżnicowania genetycznego, przy zastrzeżeniu (uzasadnionym powyżej), że zostały one wygenerowane w oparciu o arbitralne produkty amplifikacji. Uważam jednak, że wiązanie obserwowanych polimorfizmów ściśle z aktywnością transpozycyjną indukowaną stresem środowiskowym, jak zaproponowano w dyskusji, nie znalazło wystarczającego uzasadnienia w raportowanych wynikach prac eksperymentalnych.

2. Oszacowanie zmienności genetycznej *C. quitensis* z populacji zlokalizowanych w Chile oraz w Antarktyce

Publikacja P2 (*Polar Biology* 2018) stanowi rozszerzenie badań opisanych w publikacji P1 o nowe populacje pokrywające szerszy obszar występowania gatunku. Zastosowana technika genotypowania to ponownie iPBS, zatem moje komentarze przedstawione w opisie publikacji P1 odnoszą się również do publikacji P2. Tym niemniej, badania te można niewątpliwie uznać za pionierskie, mogą one stanowić dobry punkt wyjścia do dalszych bardziej szczegółowych analiz ponieważ wykorzystana strategia badawcza pozwoliła na udokumentowanie istnienia ustrukturyzowanej zmienności genetycznej w obrębie gatunku *C. quitensis*.

3. Uzyskanie sekwencji genomu chloroplastowego *C. apetalus* oraz jego charakterystyka i analiza porównawcza z genomem chloroplastowym *C. quitensis*

Publikacja P3 (*PeerJ* 2018) jest pierwszą, w cyklu stanowiącym osiągnięcie naukowe, poświęconą porównawczej analizie genomów organellowych *Colobanthus*. Autorzy zsekwencjonowali i złożyli kompletny genom chloroplastowy *C. apetalus*, a następnie porównali jego sekwencję i organizację z wcześniej dostępnym złożeniem genomu chloroplastowego *C. quitensis*. Zidentyfikowano również sekwencje mikrosatelitarne w obu genomach, scharakteryzowano ich dystrybucję, jednak w tym elemencie zabrakło mi

informacji o poziomie polimorfizmu SSR obserwowanego w porównywanych genomach. W raporcie znalazła się natomiast informacja o polimorfizmach SNP oraz próba oceny presji selekcyjnej na geny chloroplastowe w oparciu o stosunek Ka/Ks , a także analiza filogenetyczna obejmująca inne gatunki z rodziny Caryophyllaceae, dla których dostępne były złożeni genomów plastydowych.

4. Opracowanie sekwencji genomów chloroplastowych dla kolejnych reprezentantów rodzaju *Colobanthus* oraz ich charakterystyka i analiza porównawcza w celu opisu kierunków ewolucji genomów chloroplastowych w tej grupie roślin oraz rekonstrukcji powiązań filogenetycznych pomiędzy gatunkami *Colobanthus* i innymi taksonami w ramach rodziny Caryophyllaceae

Publikacja P4 (*Sci Rep* 2020) stanowi znaczące rozwinięcie kierunku badawczego zainicjowanego w publikacji P3 i dostarcza nowych danych w postaci kompletnych złożeni genomów plastydowych sześciu kolejnych gatunków z rodzaju *Colobanthus*. Analiza porównawcza wykazała znaczące zakonserwowanie ogólnej wielkości i struktury tych genomów w obrębie rodzaju. Wskazano również na działanie selekcji czyszczącej na większość genów zlokalizowanych w genomie chloroplastowym, zidentyfikowano 12 wysoce zmiennych rejonów cpDNA oraz potwierdzono opisane wcześniej związki filogenetyczne w obrębie rodziny Caryophyllaceae. Podobnie jak w publikacji P3 nie opisano poziomu polimorfizmu SSR, pomimo identyfikacji sekwencji mikrosatelitarnych.

5. Opracowanie, charakterystyka i analiza porównawcza sekwencji genów mitochondrialnych dla wybranych przedstawicieli rodzaju *Colobanthus* oraz ich wykorzystanie w analizie filogenetycznej tej grupy roślin

Publikacja P5 (*Genes* 2022) stanowiła rozszerzenie podejścia badawczego opartego o porównawczą analizę genomów organellowych. W tym celu autorzy wykorzystali złożenia 26 genów zlokalizowanych w genomach mitochondrialnych ośmiu gatunków z rodzaju *Colobanthus*. Geny te zostały złożone *de novo* z odczytów NGS przy wykorzystaniu referencyjnego genomu mitochondrialnego *Silene vulgaris*. Do przeprowadzenia analizy porównawczej wykorzystano strategię zastosowaną wcześniej do porównań genomów plastydowych, obejmującą identyfikację polimorfizmów punktowych, analizę Ka/Ks identyfikację potencjalnych miejsc edycji RNA oraz analizę filogenetyczną, tym razem obejmującą szerszą grupę taksonomiczną, czyli reprezentantów rzędu Caryophyllales.

Podsumowanie oceny osiągnięcia naukowego

Jako najważniejsze elementy przedstawionego do oceny osiągnięcia uważam:

- Sporządzenie, adnotację i analizę porównawczą kompletnych złożeni genomów plastydowych gatunków z rodzaju *Colobanthus* (wyniki opisane w publikacjach P3 i P4);
- Pozyskanie kolekcji populacji reprezentujących gatunek *C. quitensis* zasiedlających różne środowiska oraz próbę analizy wewnątrz- i międzypopulacyjnej zmienności genetycznej, z

zastrzeżeniem, że oparcie tej analizy na tylko jednej, relatywnie mało precyzyjnej technice genotypowania może stanowić jedynie punkt wyjścia do bardziej miarodajnych analiz (P1 i P2). Dalsze poszerzenie kolekcji i wykorzystanie lepiej zdefiniowanych polimorfizmów pozwoli na weryfikację dotychczasowych wniosków;

- Próbę wykorzystania sekwencji genów mitochondrialnych do analizy porównawczej i filogenetycznej gatunków *Colobanthus* (P5). Jak wskazano w autoreferacie, opracowanie kompletnych genomów mitochondrialnych będzie celem, który Habilitant zdefiniował na kolejne lata badań.

Należy podkreślić, że badania dotyczyły gatunków roślin przystosowanych do życia w warunkach polarnych. Zapewne możliwe do wykorzystania zasoby finansowe, biorąc pod uwagę fakt, że rodzaj *Colobanthus* nie ma istotnego znaczenia gospodarczego, nie obejmuje on również roślin modelowych, zdeterminowały skalę badań. Stąd decyzja o skoncentrowaniu się na analizie genomów pozajądrowych wydaje mi się na tym etapie bardzo uzasadniona. Oczywiście wybór takiego obiektu badawczego determinuje również liczbę zespołów naukowych zainteresowanych uzyskanymi wynikami, co z kolei przekłada się na liczbę cytowań. Tym bardziej należy podkreślić, że prace te są cytowane, co skomentowałem już powyżej. Uważam, że cele badań zdefiniowane przez Habilitanta zostały osiągnięte, a uzyskane wyniki są istotne dla dyscypliny nauki biologiczne.

3. Ocena pozostałej aktywności naukowej Habilitanta realizowanej w więcej niż jednej instytucji naukowej

Na dotychczasowy dorobek dr. P. Androsiuka składa się 28 artykułów naukowych, w tym 25 opublikowanych w czasopismach z listy JCR, z których pięć artykułów stanowi główne osiągnięcie naukowe wskazane w dokumentacji do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego. Aktywność publikacyjną Habilitant rozpoczął w roku 2005, lecz zdecydowana większość prac (w tym wszystkie z listy JCR) została opublikowana po uzyskaniu przez Habilitanta stopnia naukowego doktora. Sumaryczny IF dla tych publikacji wynosi 66,192, w tym dla publikacji niewskazanych jako główne osiągnięcie naukowe współczynnik ten wynosi 52,135. Ponadto, opublikował On dwa rozdziały w monografiach naukowych i przedstawił 22 komunikaty na konferencjach naukowych. W bazie Web of Science dr. P. Androsiukowi przypisano 25 rekordów, dla których liczba cytowań to 176, w tym 137 bez autocytowań (wg stanu na dzień 24 lipca 2023), a indeks Hirscha wynosi 8. Przedstawione parametry bibliometryczne można uznać za zadowalające w odniesieniu do dyscypliny nauki biologiczne w obszarze badań nad roślinami niemodelowymi, biorąc pod uwagę obecny etap kariery naukowej dr. P. Androsiuka.

Podjęte przez Habilitanta zagadnienia badawcze dotyczyły różnych obszarów badawczych w ramach nauk biologicznych. Początek kariery badawczej dotyczył biologii komórki, budowy i funkcjonowania błon komórkowych na modelu zwierzęcym, co stanowiło tematykę pracy licencjackiej i magisterskiej dr. P. Androsiuka. Na kolejnym etapie

zainteresował się On genetyką drzew leśnych, badając zróżnicowanie genetyczne europejskich populacji sosny zwyczajnej na poziomie morfologicznym i molekularnym. Wyniki tych badań stanowiły podstawę rozprawy doktorskiej oraz pierwszych publikacji dr. P. Androsiuka indeksowanych w bazie JCR. Udział w projektach badawczych z tego zakresu pozwolił również Habilitantowi na nawiązanie kontaktów międzynarodowych i odbycie ponadrocznego stażu na Uniwersytecie Umea w Szwecji. Doświadczenie w zastosowaniu markerów molekularnych do oceny zmienności genetycznej wykorzystał On do badań gatunków z rodzin Poaceae i Caryophyllaceae występujących w obszarach polarnych i subpolarnych. Zagadnienie to stało się osią zainteresowań badawczych dr. P. Androsiuka, co znalazło odzwierciedlenie również w tematyce osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę wniosku habilitacyjnego. Badania te były i są realizowane w ramach szerokiej współpracy z polskimi i zagranicznymi zespołami naukowymi, w tym z Zakładem Biologii Antarktyki Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie, Zakładem Anatomii i Cytologii Roślin, Wydziału Biologii i Biotechnologii, Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie, Katedrą Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej z Wydziału Rolnictwa i Leśnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, Departamento de Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnología, Universidad de Concepción, Los Ángeles, Chile oraz szeregiem światowych ogrodów botanicznych. Współpraca ta zaowocowała kolekcją wartościowych publikacji publikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym oraz doniesień konferencyjnych. Równolegle dr P. Androsiuk współpracował z Zakład Biochemii i Biotechnologii Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB badając zmienność genetyczną i epigenetyczną indukowaną w kulturach *in vitro* roślin.

W podsumowaniu stwierdzam, że dr Piotr Androsiuk w toku swojej dotychczasowej kariery wykazywał się dużą aktywnością naukową, realizując ją w różnych instytucjach naukowych, tj. na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu, na Wydziale Biologii Uniwersytetu-Warmińsko Mazurskiego w Olsztynie, a także na stażu naukowym w Department of Ecology and Environmental Sciences, Umeå University, Umeå, Szwecja. Wypełnił tym samym odpowiedni wymóg ustawy.

- Kierowanie projektami badawczymi oraz udział w projektach badawczych

Zgodnie z informacjami przedstawionymi w wykazie osiągnięć naukowych Dr Piotr Androsiuk kierował projektem NCN MINIATURA 2 (lata 2018-2019) oraz projektem finansowanym z funduszy wewnętrznych Wydziału Biologii UAM (lata 2005-2006). Był również wykonawcą w projekcie międzynarodowym (Marie Curie Fellowship for Transfer of Knowledge; lata 2004-2005) oraz w projekcie krajowym finansowanym przez MNiSW (lata 2006-2008). W mojej ocenie aktywność Habilitanta w kierowaniu i realizacji projektów badawczych była relatywnie niska, zwłaszcza po uzyskaniu stopnia doktora, kiedy to jedynym projektem, w którego realizację był On zaangażowany była MINIATURA (wyniki opisano w publikacji P4).

Dostrzegam w tym miejscu pewną rozbieżność z informacjami podanymi w publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe; w publikacji P1 jako źródło finansowania wskazano grant NCN o numerze 2013/09/B/NZ8/03293. Podobnie było w przypadku publikacji P2 i P3 (grant NN303796240). Zastanawia mnie jak to możliwe, że pierwszy i/lub korespondujący autor tych publikacji nie pełnił roli wykonawcy w obu wymienionych projektach.

- Staże i współpraca międzynarodowa

Dr Piotr Androsiuk odbył trzynastomiesięczny staż naukowy w Department of Ecology and Environmental Sciences, Umeå University, Umeå, Szwecja. Jego współpraca naukowa obejmowała również inne zagraniczne instytucje naukowe, w tym Universidad de Concepción, Los Ángeles, Chile oraz ogrody botaniczne.

- Dorobek dydaktyczny i organizacyjny

Dr Piotr Androsiuk prowadził wykłady i ćwiczenia z wielu przedmiotów dla studentów Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, w języku polskim i angielskim. Był opiekunem i recenzentem prac inżynierskich, licencjackich i magisterskich. Pełnił również różne funkcje organizacyjne na Wydziale Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Botanicznego, Polskiego Towarzystwa Genetycznego oraz Komitetu Badań Polarnych przy Prezydium Polskiej Akademii Nauk. Brał udział w aktywnościach promujących naukę.

Ocena podsumowująca dorobek niewchodzący w zakres osiągnięcia naukowego

Analiza dorobku naukowego dr. Piotra Androsiuka niewchodzącego w skład osiągnięcia naukowego wskazuje wyraźnie, że sedno jego zainteresowań obejmuje obecnie zagadnienia związane ze zmiennością genetyczną i ewolucją gatunków roślin zaadaptowanych do życia w surowych warunkach strefy polarnej i subpolarnej. Stopniowo zaczął On stosować coraz bardziej złożone, a jednocześnie informatywne techniki badawcze, co wskazuje na jego ciągły rozwój naukowy. Dobrze oceniam również jego współpracę z wieloma jednostkami naukowymi, zarówno polskimi, jak i zagranicznymi. Sugerowałbym natomiast większe zaangażowanie w pozyskiwanie funduszy na badania ze źródeł zewnętrznych, zwłaszcza w charakterze lidera projektów. Udana realizacja projektu MINIATURA i jego rozliczenie wysokiej jakości publikacją naukową stanowi niewątpliwie krok w dobrym kierunku. **Reasumując, pozostałe osiągnięcia naukowe dr. Piotra Androsiuka całościowo oceniam jako wystarczające do uzasadnienia wniosku o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.**

4. Wniosek końcowy

W konkluzji stwierdzam, że wskazane przez dr. P. Androsiuka osiągnięcia naukowe wypełniają kryteria opisane w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U.2023.742 ze zm.). Tym samym **popieram wniosek dr. Piotra Androsiuka o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.**



Kraków, 4 sierpnia 2023

Prof. dr hab. inż. Dariusz Grzebelus