

Skierniewice, 20.12.2021

Dr hab. Małgorzata Podwyszyńska, prof. IO
Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Biologii Stosowanej
96-100 Skierniewice, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3

Recenzja

osiągnięcia naukowego, aktywności naukowej oraz dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego dr inż. Marceliny Krupa-Małkiewicz w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo

Recenzję wykonano na podstawie pisma z dn. 29.10.2021 r. RD RiO 511/3/2021 Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie w związku z informacją o powołaniu mnie na recenzenta komisji habilitacyjnej w postępowaniu habilitacyjnym Pani dr inż. Marceliny Krupa-Małkiewicz na mocy uchwały nr RDRiO 13/2021 Senatu Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dn. 27.10. 2021 r.

Podstawą oceny są dokumenty załączone przez Habilitantkę do wniosku z dn. 14.06.2021r. o wszczęcie postępowania habilitacyjnego. Wniosek zawiera wszystkie wymagane dokumenty i został przygotowany zgodnie z wymaganiami określonymi w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.)

1. Informacja o karierze naukowej i zawodowej Habilitantki

Dr inż. Marcelina Krupa-Małkiewicz jest absolwentką Akademii Rolniczej w Szczecinie, gdzie na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt - Kierunek Biotechnologia, w 2002 r. uzyskała tytuł zawodowy magistra inżyniera ze specjalizacją w zakresie biotechnologii w produkcji roślinnej. Na tej uczelni w czerwcu 2007 r. dr Marcelina Krupa-Małkiewicz uzyskała stopień naukowy doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwo. Pracę doktorską pt. „Zmiany fenotypowe i genotypowe u kalanchoe (*Kalanchoë* sp. *kalanchoe*) i petunii (*Petunia grandiflora*) wywołane mutagenami chemicznymi” wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Danuty Rzepki-Plevneš. Recenzentami pracy byli prof. dr hab. Małgorzata Zalewska i prof. dr hab. Piotr Masojć. W tym samym roku we wrześniu Habilitantka podjęła pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Akademii Rolniczej w Szczecinie. Po roku pracy w tym samym Zakładzie awansowała na stanowisko adiunkta. Obecnie po przekształceniach jest to Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. W Katedrze tej pracuje do dzisiaj.

2. Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 7 powiązanych tematycznie recenzowanych publikacji naukowych pod wspólnym tytułem „Wykorzystanie metod biotechnologicznych do otrzymania somaklonów petunii (*Petunia × atkinsiana* D. Don) o podwyższonej tolerancji na

stres wywołany zasoleniem oraz ocena możliwości łagodzenia negatywnych skutków tego stresu poprzez zastosowanie substancji biologicznie czynnych”.

Sumaryczna liczba punktów ocenianych publikacji według punktacji MNiSW (obecnie MEiN) wynosi 227 (o 20 pkt. więcej niż podała Habilitantka, pominęła punkty za pracę H3, której brakuje także w zestawieniu tabelarycznym - Tabela 1) a sumaryczny IF prac podany w roku publikacji według bazy Journal Citation Reports wynosi 4,908; liczba cytowań WoS – 16.

Publikacje (H) wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

- H1** Krupa-Małkiewicz M*., Kosatka A., Smolik B., Sędzik M. 2017. Induced mutations through EMS treatment and in vitro screening for salt tolerance plant of *Petunia × atkinsiana* D. Don. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 45(1): 190-196 DOI:10.15835/nbha45110578 (**IF 0.648, MNiSW 15, udział 70%, cytowania 6**)
- H2** Krupa-Małkiewicz M*., Bienias A. 2018. BSA and molecular markers screening for salt stress tolerant mutant of *Petunia* obtained in in vitro culture. *Ciência Rural* 48(12) (e20170042. DOI:10.1590/0103-8478cr20170042 (**IF 0.553, MNiSW 20, udział 80%, cytowania 2**))
- H3** Krupa-Małkiewicz M*., Bienias A. 2020. Assessment of genetic variations in EMS-exposed *Petunia* tested for salt in vitro tolerance using RAPD. *Polish Journal of Natural Sciences* 35(4):383-394 (**IF 0, MEiN 20, 80%**)
- H4** Krupa-Małkiewicz M*., Fornal N. 2018. Application of chitosan in vitro to minimize the adverse effects of salinity in *Petunia × atkinsiana* D. Don. *Journal of Ecological Engineering* 19(1)143-149 (**IF 0, MNiSW 12, udział 90%, cytowania 5**)
- H5** Krupa-Małkiewicz M*., Smolik B., Sędzik M. 2019. Application of ascorbic acid and gibberellic acid to screening response to salt stress in *Petunia* under in vitro culture. *PHYTON International Journal of Experimental Botany* 88:15-23 (**IF 0.329, MNiSW 20, udział 80%, cytowania 1**)
- H6** Krupa-Małkiewicz M*., Smolik B. 2019. Alleviative effect of chitosan and ascorbic acid on *Petunia × atkinsiana* D. Don under salinity. *European Journal of Horticultural Science* 84(6):359-365. DOI: 10.17660/eJHS.2019/84.6.5 (**IF 1.182, MEiN 40, udział 80%, cytowania 2**)
- H7** Krupa-Małkiewicz M*., Calomme M. 2021. Actisil application affects growth, flowering, and biochemical parameters in *petunia* in vitro and greenhouse. *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*, DOI:10.1007/s11240-021-02078-3 (**IF 2.196, MEiN 100, udział 80%**)

Spośród 7 prac, stanowiących osiągnięcie naukowe, pięć zostało opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym ze współczynnikiem wpływu IF według JCR-WoS od 0.329 do 2.196, wynoszącym średnio 0,982. Prace te ukazały się w następujących czasopismach: *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*; *Ciência Rural*; *Journal of Experimental Botany*; *European Journal of Horticultural Science* oraz *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*. Dwie publikacje ukazały się w wydawanych w Polsce czasopismach o zasięgu międzynarodowym (w języku angielskim): *Journal of Ecological Engineering*, indeksowanym m.in. w bazie Scopus oraz *Polish Journal of Natural Sciences*, indeksowanym w Index Copernicus.

Szacuje się, że zasolenie może obejmować ponad 6% całkowitej powierzchni łądów i jest jednym z głównych czynników degradacji gleb. Rosnąca populacja ludzka pociąga za sobą coraz większe zapotrzebowanie na produkty rolne. Rośnie zatem gwałtownie powierzchnia zajmowana pod uprawy, które z kolei są intensywnie nawożone i poddawane

zabiegom ochrony. To w połączeniu z rosnącym zagrożeniem suszą stwarza warunki do nadmiernej akumulacji różnych soli w glebach. Ponadto, stosowanie w kraju dużych ilości soli do odśnieżania dróg przyczynia się do jej gromadzenia w glebie i w roślinach. Uważam zatem, że wybrane przez Habilitantkę: tematyka badawcza oraz petunia jako roślina modelowa są jak najbardziej słuszne.

Głównym celem badań, których wyniki dr inż. Marcelina Krupa-Małkiewicz prezentowała w cyklu publikacji stanowiącym osiągnięcie naukowe, było uzyskiwanie somaklonów petunii (*Petunia × atkinsiana*) o zwiększonej tolerancji na stres solny przy użyciu mutagenu chemicznego w kulturach roślinnych *in vitro* i powszechnie wykorzystywanego czynnika selekcyjnego jakim jest NaCl. W kolejnych pracach skupiła się nad oceną wybranych czynników na łagodzenie skutków stresu solnego. W swoim warsztacie badawczym posługiwała się różnymi metodami takimi jak: kultury *in vitro* kalusa i pędów, analiza zawartości biochemicznych markerów tolerancji na stres – proliny, dialdehydu malonowego (MDA) i katalazy, metody spektrofotometryczne oznaczania zawartości chlorofilu, karotenoidów i związków fenolowych oraz analizy molekularne RAPD i ISSR oparte na PCR, a także ocena barwy liści metodą CIE $L^*a^*b^*$.

Pierwsza praca (**H1**) dotyczy indukowanej w kulturach *in vitro* mutagenezy przy użyciu siarczanu etylowo-metylowego (EMS). Zainicjowane na fragmentach liści kultury kalusa traktowano ww. mutagenem. Uzyskane linie potencjalnych mutantów M1 i M2 poddano stresowi solnemu. Zastosowano pożywki selekcyjne o różnej zawartości NaCl. Wyselekcjonowany materiał roślinny oceniano pod względem cech morfologicznych i parametrów biochemicznych. W rezultacie ustalono optymalne warunki traktowania mutagenem. Pozwoliło to uzyskać warianty M1 i M2 cechujące się podwyższoną tolerancją na działanie stresu solnego, na co wskazywały zwiększone zawartości proliny, chlorofilu i karotenoidów i obniżona zawartość MDA oraz niższy wskaźnik EC.

Celem drugiej pracy (**H2**) była analiza różnic genetycznych wyselekcjonowanych pojedynków petunii w odniesieniu do materiału kontrolnego - nie traktowanego mutagenem ani czynnikiem selekcyjnym NaCl. Zastosowano analizę molekularną RAPD i ISSR prób zbiorczych (ang. BSA), które stanowiły rośliny zregenerowane z kalusa kontrolnego, warianty otrzymane z kalusa traktowanego mutagenem EMS oraz warianty wykazujące podwyższoną tolerancję na stres solny w kulturach *in vitro*. Na podstawie przeprowadzonych analiz wytypowano markery różnicujące każdą z grup, w tym markery różnicujące rośliny o podwyższonej tolerancji stresu solnego. Uzyskane wyniki stanowiły podstawę do dalszych badań, których rezultaty opisano w kolejnej publikacji (**H3**). Celem tych badań było określenie zróżnicowania genetycznego pomiędzy wyselekcjonowanymi pojedynkami. Do identyfikacji zmian genetycznych u zmienionych fenotypowo pojedynków petunii (uzyskanych po traktowaniu samym mutagenem EMS i dodatkowo czynnikiem stresowym NaCl) wykorzystano analizę RAPD. Kontrolę stanowiły rośliny nie traktowane. Na podstawie analizy polimorfizmu RAPD metodą średnich połączeń (UPGMA) dokonano oceny dystansu genetycznego pomiędzy roślinami kontrolnymi a roślinami uzyskanymi w wyniku mutagenezy połączonej z selekcją na pożywkach zawierających NaCl. Analiza ta wykazała, że największe różnice genetyczne występują pomiędzy roślinami kontrolnymi a mutantami EMS, które wyselekcjonowano na pożywkach zawierających NaCl. Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły na identyfikację przy użyciu markerów RAPD wariantów (mutantów) charakteryzujących się podwyższoną tolerancją na stres zasolenia. Zdaniem autorów umożliwia to wczesną selekcję pożądaných genotypów, jeszcze przed ich adaptacją do warunków *in vivo*. Według mojej opinii przydatność uzyskanych markerów do szybkiej selekcji wariantów petunii, cechujących się podwyższoną tolerancją na stres, powinna być potwierdzona w dalszych badaniach. Nie mniej jednak, wyniki te stanowią bardzo dobrą podstawę do kolejnych prac nad poszukiwaniem molekularnego mechanizmu

odporności na stres solny, jak również sprawdzenia możliwości wykorzystania otrzymanych różnicujących markerów molekularnych do selekcji genotypów o zwiększonej odporności na stres solny u wielu innych genotypów w obrębie gatunku czy rodzaju.

W kolejnych 3 publikacjach (**H4**, **H5** i **H6**) badano możliwości wykorzystania różnych związków takich jak kwas askorbinowy, giberelina GA₃ i chitozan na zmniejszenie negatywnych skutków działania stresu solnego u petunii.

W publikacji **H4** opisano wyniki badań dotyczące wpływu kwasu askorbinowego i GA₃ na wzrost roślin w kulturach *in vitro*, ich parametry biochemiczne (zawartość chlorofilu i MDA) oraz barwę liści (CIE L*a*b*) u dwóch odmian petunii, 'Prism Red' i 'Prism White'. Wykazano, że w warunkach stresu solnego kwas askorbinowy i giberelina korzystnie oddziaływały na wzrost części nadziemnej, ale nie wpływały na system korzeniowy. Związki te obniżały też zawartość proliny i MDA w roślinach obu odmian. Wykazano, że wyższą tolerancją stresu solnego charakteryzują się rośliny petunii 'Prism White'. Wyniki wskazują na możliwość neutralizowania skutków działania wysokiego stężenia soli na rośliny petunii w warunkach *in vitro* poprzez dodatek kwasu askorbinowego i kwasu giberelinowego do pożywki. Następnie Habilitantka zainteresowała się możliwością wykorzystania chitozanu w celu łagodzenia skutków stresu solnego u roślin w kulturach *in vitro* (**H5**). W pierwszym etapie dokonano wyboru optymalnego stężenia chitozanu mającego stymulujący wpływ na wzrost pędów petunii 'Prism White'. W drugim etapie określono wpływ wybranego chitozanu o masie molowej 970 kDa w stężeniu 15 ppm na łagodzenie skutków stresu solnego. Wykazano, że wytypowane traktowanie chitozaniem znacząco ogranicza niekorzystne efekty tego stresu. Badania nad pozytywnym wpływem chitozanu kontynuowano. Tym razem doświadczenia prowadzono w warunkach uprawy szklarniowej. Porównywano skuteczność działania chitozanu w połączeniu z kwasem askorbinowym na łagodzenie skutków negatywnego działania NaCl (**H6**). Oceniano wpływ tych związków na wzrost i parametry biochemiczne oraz barwę liści petunii w warunkach stresu zasolenia. Materiał badawczy stanowiły rośliny petunii 'Prism White', które wyselekcjonowano *in vitro* na pożywkach z dodatkiem 100 mM NaCl. Rośliny podlewano roztworem NaCl i/lub roztworami kwasu askorbinowego i/lub chitozanu. Wyniki badań potwierdziły, że w warunkach stresu solnego, traktowanie chitozaniem lub kwasem askorbinowym wpływa korzystnie na wzrost części nadziemnej roślin (związki te nie wpływały na system korzeniowy), względną zawartość wody w roślinach oraz wzrost aktywności antyoksydacyjnej (istotny spadek stężenia MDA).

Pozytywne działanie ww. związków na łagodzenie części objawów toksycznego działania stresu solnego u petunii wykazano zarówno w kulturach *in vitro* jak i w warunkach uprawy szklarniowej. Uważam, że można rozważyć stosowanie tych związków w produkcji ogrodniczej w razie zaistnienia zagrożenia związanego z zasoleniem, jednak wymagałoby to dalszych badań z udziałem innych gatunków roślin.

W ostatniej pracy **H7** badano wpływ komercyjnego preparatu zawierającego krzem (Hydroplus™ Actisil) na wzrost i kwitnienie oraz parametry biochemiczne roślin petunii w kulturach *in vitro* oraz w uprawie szklarniowej. Wykazano, że suplementacja roztworem krzemu w warunkach *in vitro* działała jak czynnik stresowy, co potwierdziły uzyskane wyniki słabszego wzrostu pędów oraz analiz biochemicznych (wyższa zawartość proliny, MDA i związków fenolowych oraz aktywności katalazy). Interesującym efektem aplikacji preparatu krzemowego była stymulacja kwitnienia zarówno w warunkach *in vitro* jak i w szklarni, przy czym podczas uprawy w szklarni ten efekt był bardziej wyraźny. Ponadto Actisil w uprawie szklarniowej znacząco poprawił wzrost pędów oraz korzeni. Autorka sugeruje, że korzystny wpływ Actisilu na rośliny petunii, jako gatunku nieakumulującego krzemu, może wynikać z udziału tego pierwiastka w procesach fizjologicznych i/lub biochemicznych, a nie poprzez stanowienie bariery fizycznej, jak to się dzieje w przypadku roślin akumulujących krzem. Na podkreślenie zasługuje realizacja badań we współpracy z firmą Yara Poland, będącą

producentem preparatu krzemowego Hydroplus™ Actisil oraz z belgijską firmą BIO MINERALS N.V. zajmującą się badaniem zawartości krzemu w tkankach roślinnych.

W autoreferacie, który nie podlega ocenie, Habilitantka nie ustrzegła się kilku nieprawidłowych sformułowań, wkrały się również pewne nieścisłości przy opisie wyników badań stanowiących osiągnięcie naukowe. Poniżej wymieniam najważniejsze.

- Tytuł publikacji H5 w autoreferacie jest nieco zmieniony. Prawidłowo brzmi następująco: "Influences of ascorbic acid and gibberellic acid in alleviating effects of salinity in *Petunia* under in vitro".

- Niefortunne sformułowania zawarte w hipotezie badawczej i powtórzone w dalszych częściach autoreferatu: „indukowanie zmienności somaklonalnej oraz mutageny chemicznej”; powinno być raczej: „indukowanie zmienności somaklonalnej poprzez zastosowanie mutageny chemicznej” oraz „Oceny tolerancji otrzymanych na drodze mutageny chemicznej wariantów za pomocą markerów molekularnych i wyselekcjonowania starterów ISSR oraz RAPD...”. Przy użyciu specyficznych markerów molekularnych można wyselekcjonować genotypy o zwiększonej tolerancji na dany czynnik stresowy. Oceny poziomu tolerancji na zasolenie dokonuje się poprzez analizę wzrostu roślin czy parametrów biochemicznych.

- Cel numer 3 pracy zawiera nieścisłość: „Ocena wpływu substancji biologicznie czynnych..., a także komercyjnego roztworu krzemu (Hydroplus™ Actisil) do łagodzenia negatywnego oddziaływania stresu solnego na rośliny w warunkach in vitro i in vivo (H4, H5, H6, H7).” Działania preparatu Actisil nie oceniano w warunkach stresu solnego (praca H7).

- W opisie H1 napisano: „...Indukowanie zmienności somaklonalnej i mutacyjnej”. Zmienność mutacyjna jest częścią zmienności somaklonalnej.

- W opisie H2 nieprawidłowe, jak wyżej, sformułowanie: „Połączenie zmienności somaklonalnej z indukowaną w kulturach in vitro mutageną”. Z kolei stwierdzenie „Analiza ...wskazała na liczne zmiany w sekwencji DNA wywołane działaniem mutagenu EMS, które rozmieszczone były po całym genomie” pierwsza część tego zdania jest prawidłowa, ale druga jest zbyt daleko idącym wnioskiem, gdyż badania nie obejmowały mapowania genomu.

- W opisie H3 użyto nieprawidłowego terminu: „...wykorzystano 20 markerów RAPD”. Powinno być „20 starterów RAPD”.

- W opisach H6 i H7 jest informacja, że doświadczenia prowadzono w warunkach polowych a były to warunki uprawy szklarniowej.

Wszystkie prace były pozytywnie zrecenzowane i to one podlegają ocenie jako osiągnięcie naukowe. Zaznaczam, że w pracach opublikowanych w języku angielskim stanowiących osiągnięcie naukowe takich błędów nie dostrzegłam. W pracy H1 wkrał się jedynie błąd techniczny - prawdopodobnie z winy edytora, na który autorzy nie mieli wpływu. Otóż badania prowadzono na petunii, a wniosek dotyczy ochrony siedlisk storczyków.

Za najważniejsze osiągnięcia poznawcze i aplikacyjne przedstawionych prac uważam:

1. Ustalenie optymalnych warunków indukowania mutageny oraz selekcji w kulturach in vitro petunii z wykorzystaniem siarczanu etylowometylowego (EMS) jako mutagenu oraz NaCl jako czynnika selekcyjnego, a także uzyskanie dzięki temu wartościowych mutantów petunii o podwyższonej tolerancji na stres zasolenia.
2. Wytypowanie na podstawie analizy molekularnej ISSR i RAPD potencjalnych markerów różnicujących mutanty petunii o zwiększonej tolerancji na stres solny.
3. Pokazanie możliwości wykorzystania związków takich jak kwas askorbinowy, kwas giberelinowy i chitozan do ograniczania negatywnych efektów działania stresu solnego.

4. Wykazanie, że stosowanie preparatu zawierającego krzem u roślin petunii z grupy gatunków, które nie akumulują krzemu, wpływa korzystnie na wzrost roślin w uprawie szklarniowej i stymuluje ich kwitnienie.

Podsumowując osiągnięcie naukowe dr inż. Marceliny Krupa-Małkiewicz, stwierdzam, iż publikacje składające się na osiągnięcie naukowe są oryginalną pracą twórczą o wartości poznawczej i aplikacyjnej i wnoszą znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej rolnictwo i ogrodnictwo. Uzyskane wyniki badań mogą stanowić cenne wskazania do badań nad wytwarzaniem nowych odmian o zwiększonym poziomie tolerancji na zasolenie. Dostarczają informacji o możliwości zmniejszania negatywnych skutków zasolenia. Prowadząc badania Habilitantka wykorzystywała nowoczesne, powszechnie stosowane w tego typu badaniach metody i techniki. Osiągnięcie to spełnia kryteria określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r., art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3, Dz. U. 2018, poz. 1668.

3. Ocena pozostałego dorobku naukowo-badawczego

Dorobek naukowy dr Marceliny Krupa-Małkiewicz, poza 7 publikacjami stanowiącymi osiągnięcie naukowe, obejmuje 36 oryginalnych prac twórczych, 2 publikacje ukazały się przed uzyskaniem stopnia doktora. Spośród pozostałych 34 publikacji, 11 opublikowano w czasopismach ze współczynnikiem wpływu IF wahającym się od 0,244 do 3,267 i wynoszącym średnio 1,327; były to następujące czasopisma: *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* - 2 prace; w pozostałych ukazało się po 1 pracy - *Agronomy*; *Molecules*; *Journal of Integrative Agriculture*; *Journal of Elementology*; *Scientia Horticulturae*; *Folia Horticulturae*; *Dendrobiology* oraz *Journal of Food, Agriculture and Environment*. Niemal w połowie prac udział habilitantki był wiodący i polegał na opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu analiz laboratoryjnych, udziale w opracowywaniu wyników badań i pisaniu manuskryptu. Pozostałe oryginalne prace twórcze w liczbie 23, które ukazały się po doktoracie, zostały opublikowane głównie w polskich czasopismach - w większości w *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis*, *Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*. W 18 spośród tych prac była pierwszym lub korespondencyjnym autorem.

Wszystkie oryginalne prace, z wyjątkiem dwóch (B21 i B23) są publikacjami wieloautorskimi, w których autorzy pochodzą z innych katedr lub wydziałów Uniwersytetu macierzystego Habilitantki lub z innych polskich jednostek naukowych takich jak: Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu (A2, A3, A4, A6, B1), Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy (A4, B1), Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach (A4). Świadczy to tym, że Habilitantka wykazuje dużą umiejętność współpracy, tworząc zespoły współpracujących ze sobą badaczy różnych specjalności lub będąc do nich zapraszaną. W jednej z prac w badaniach uczestniczył badacz z działu naukowego firmy belgijskiej Minerals N.V. (Destelbergen). Habilitantka była również współautorem, jako drugi lub trzeci autor, 19 rozdziałów monografii naukowych, wszystkich opublikowanych przez Wydawnictwo Młodzi Naukowcy w cyklu „Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce”.

Podsumowując, dorobek publikacyjny habilitantki obejmuje 43 oryginalne prace współautorskie (w autoreferacie podała 42, jak wspomniano wyżej pominęła pracę H3), z

czego w 28 jest autorem wiodącym. Spośród 43 oryginalnych prac twórczych, 39 zostało wydanych w języku angielskim, w tym 16 publikacji w czasopismach z bazy JCR. Należy podkreślić, że jest to liczbowo spory dorobek publikacyjny. Łączna suma uzyskanych punktów zgodnie z liczbą punktów z listy MNIŚW (MeiN) w roku wydania z uwzględnieniem osiągnięcia naukowego wynosi 1163+20. W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora dorobek naukowy stanowiły 2 oryginalne prace twórcze. Znakomita większość dorobku naukowego obejmuje prace opublikowane po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Sumaryczny Impact Factor (IF) publikacji według listy Journal Citation Reports (JCR) w roku wydania wynosi 19.503 (w całości uzyskany po doktoracie). Przed pół rokiem, w dniu złożeniu wniosku Jej Indeks Hirscha (IH) według bazy Web of Science (WoS) wynosił 3, a liczba cytowań 38 (bez autocytowań 26). Należy podkreślić, że obecnie, w dn. 20.12.2021 r. IH wzrósł do 4 a liczba cytowań do 48 (bez autocytowań 36). Wskazuje to na szybko rosnącą rozpoznawalność Habilitantki w środowisku międzynarodowym.

Jej aktywność jeśli chodzi o udział w konferencjach naukowych jest raczej skromna. W sumie uczestniczyła w 7 konferencjach naukowych. Na konferencjach krajowych wygłosiła 3 referaty, w 3 posterach jeden raz występowała jako pierwszy autor a w pozostałych jako współautor. Brała udział w trzech konferencjach międzynarodowych organizowanych w kraju, na których jako pierwszy autor prezentowała 2 referaty i 4 postery.

Przed uzyskaniem stopnia doktora habilitantka prowadziła badania głównie w ramach pracy doktorskiej. Dotyczyły one indukowania mutagenyzy chemicznej u petunii oraz kalanchoe w kulturach *in vitro*. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń ustaliła optymalne dawki mutagenów do efektywnego indukowania mutacji bez wywoływania efektu letalnego i potwierdziła, że obserwowane zmiany fenotypowe mają podłoże genetyczne. Uzyskane wyniki były punktem wyjścia do kolejnych badań. Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowała badania nad indukowaną w kulturach *in vitro* mutagenozą petunii, ale też kalanchoe i liatry, stosując różne mutageny chemiczne: EMS, azydek sodu, siarczan metylo-wo-metylowy (MMS) oraz siarczan dietylu (DES). Obserwowane zmiany fenotypowe dotyczyły kształtu i barwy kwiatów oraz przebarwień liści a ich genetyczny charakter i jednocześnie status mutanta zostały potwierdzone przy użyciu markerów ISSR i RAPD.

Dominującym nurtem aktywności naukowej Habilitantki było badanie odpowiedzi roślin na stesy abiotyczne z wykorzystaniem kultur *in vitro*. Badania w tym kierunku rozpoczęła jeszcze jako studentka Międzywydziałowych Studiów Doktoranckich na Akademii Rolniczej w Szczecinie pod kierunkiem nieżyjącej Prof. dr hab. Danuty Rzepki-Plevneš. Uzyskane wyniki doświadczeń na zarodkach żyta w kulturach *in vitro* potwierdziły możliwość prowadzenia selekcji w warunkach laboratoryjnych. Wykorzystując tę technikę badała reakcję siewek kilku gatunków i odmian pomidora na stres solny. Badania wykazały spore różnice pomiędzy genotypami w reakcji na ten czynnik stresowy. Poszukiwała także markerów molekularnych zwiększonej tolerancji na stres solny przy użyciu analizy ISSR. W kolejnych badaniach, posługując się kulturami *in vitro*, wykazała pozytywne działanie kwasu askorbinowego w łagodzeniu skutków stresu abiotycznego powodowanego przez zasolenie lub obecność w podłożu metali ciężkich.

Jednym z ważnych aspektów badawczych Habilitantki była optymalizacja warunków prowadzenia kultur *in vitro* różnych gatunków roślin. Część badań, dotyczących roślin zielnych, Habilitantka prowadziła we współpracy z Katedrą Ogrodnictwa ZUT w Szczecinie. Efektem tych prac były zoptymalizowane pożywki do mikrorozmnażania roślin bazylii pospolitej, krokosmii i wilca. W kulturach pędowych oceniano także zdolność do kwitnienia celozji pierzastej. Dodatkowo poprzez modyfikacje zawartości cukru w pożywce (rodzaju i

stężenia) oraz dodatku azotanu amonu opracowała skład podłoża pozwalający uzyskać 100% roślin kwitnących tego gatunku.

Część badań dotyczyła optymalizacji mikrorozmnażania roślin drzewiastych, których kultury *in vitro*, trzeba to podkreślić, są uznawane za trudne. W ramach grantu NCN we współpracy z dr hab. Ireneuszem Ochmianem, z Katedry Ogrodnictwa (ZUT, Szczecin) opracowała metodę mikrorozmnażania jagody kamczackiej. Porównywała też efektywność rozmnażania tego gatunku w warunkach *in vitro* oraz *in vivo*. Jako promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim wspierała swoim doświadczeniem badania mgr inż. Arlety Kruczek nad opracowaniem metody wegetatywnego i generatywnego rozmnażania kolcowoju pospolitego (goji) w kulturach *in vitro*. Z kolei w innych pracach skupiła się nad zwiększeniem efektywności dezynfekcji eksplantatów inicjalnych kilku gatunków roślin poprzez wykorzystanie ozonu oraz nanocząsteczek srebra. Badała też wpływ traktowania nanosrebrem na skład chemiczny siewek jęczmienia. Badania te były prowadzone we współpracy z Katedrą Fizykochemii Nanomateriałów (ZUT), Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu, Uniwersytetem Technologiczno-Przyrodniczym w Bydgoszczy i IUNG PIB w Puławach.

Obecnie Habilitantka pracuje nad zwiększeniem efektywności mikrorozmnażania kilku gatunków roślin zagrożonych. Badania te rozpoczęła w trakcie stażu naukowego w Centrum Badań i Ochrony Różnorodności Biologicznej na Uniwersytecie Jana Kochanowskiego w Kielcach, wspólnie z prof. dr hab. Renatą Piwowarczyk, z którą nadal współpracuje.

Pobocznym, ale bardzo istotnym wątkiem aktywności naukowej Habilitantki były badania dotyczące oceny cech morfologicznych i fizyko-chemicznych owoców goji i derenia, określanymi jako „superfood”, ze względu na wysoką wartość prozdrowotną owoców. Prace te prowadziła we współpracy z Katedrą Ogrodnictwa ZUT oraz Katedrą Technologii Fermentacji i Zbóż UP we Wrocławiu. Celem prac było także określenie właściwości antydiabetycznych oraz antyoksydacyjnych owoców. Włączenie się w ten nurt badań jest niezwykle ważne ze względów społecznych, gdyż publikowanie i upowszechnianie wiedzy na temat prozdrowotnych właściwości mniej znanych gatunków sadowniczych przyczynia się do popularyzacji ich uprawy i zwiększenia konsumpcji owoców.

Ważną tematyką badawczą dr Marceliny Krupa-Mańkiewicz była analiza zmienności genetycznej kilku gatunków roślin. W ramach współpracy z Ogrodem Dendrologicznym w Przelewicach, wykorzystując techniki oparte na PCR: ISSR i rDNA, analizowała różnice genetyczne w obrębie obiektów *Syringa* sp., *Acer* sp. oraz *Viburnum* sp.

Aktywność Habilitantki w pozyskiwaniu projektów badawczych jest nieduża. Niemniej jednak jako wykonawca 2009-2013 uczestniczyła w realizacji projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki. Były to badania nad bioróżnorodnością nowych polskich odmian jagody kamczackiej, sposobami uprawy, składem chemicznym, ze szczególnym uwzględnieniem związków fenolowych i aktywności przeciwutleniającej, owoców świeżych i ich przetworów. Obecnie jako wykonawca bierze udział w badaniach realizowanych w ramach działania „Współpraca”, objętego Programem Rozwoju Obszarów Wiejskich, finansowanego przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa (ARiMR). Projekt jest zatytułowany „Wino bez siarki: innowacyjne technologie w winnicy i winiarni wspierające ograniczenie dodatku siarki do win gronowych”. Na uwagę zasługuje fakt, że jest to projekt trudny zarówno do uzyskania jak i realizacji. A w konsorcjum wiodącą

rolę mają przedsiębiorcy z sektora rolniczego, którzy do realizacji swoich zadań badawczo-rozwojowych zapraszają naukowców. Udział habilitantki w tym projekcie świadczy o tym, że jej dokonania naukowe zostały dostrzeżone przez środowisko producentów. Do projektu została zaproszona w związku ze swoją wcześniejszą współpracą naukową z jedną z firm - Winnicą Pałacu Rajkowo w Przeclawiu, dla której opracowała metodę mikrorozmnażania winorośli.

Na podkreślenie zasługuje stałe podnoszenie przez Habilitantkę swoich kwalifikacji jako pracownika naukowego. W latach 2009-2021 uczestniczyła w 10 szkoleniach organizowanych przez Regionalne Centrum Innowacji i Transferu Technologii (ZUT) czy Punkt Kontaktowy 7. Programu Ramowego (ZUT). Dotyczyły one m. in. umiejętności przygotowywania tekstów naukowych, podnoszenia ich cytowalności i zdobywania funduszy na badania.

Odbyła dwa 2-tyg. staże naukowe. W 2021 r. przebywała w Instytucie Biologii na Wydziale Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, gdzie poznawała metody rozmnażania in vitro gatunków ginących i zagrożonych. W 2018 r. w Zakładzie Biotechnologii i Bioinformatyki na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej doskonaliła swoje umiejętności w zakresie identyfikacji i badania zmienności roślin technikami molekularnymi. Staże te zaowocowały wspólnym projektem realizowanym w ramach ww. Działania „Współpraca”.

Ponadto Habilitantka dwukrotnie odbyła 4-tygodniowe staże pod opieką dr hab. Ireneusza Ochmiana w Winnicy Pałacu Rajkowo w Przeclawiu zapoznając się z technologią uprawy winorośli, badała też możliwość wykorzystania roślin rozmnożonych in vitro do zakładania plantacji. Podobny staż odbyła w gospodarstwie szkółkarskim Karola Kroczyńskiego w Odargowie, który dotyczył nowoczesnych technologii uprawy borówki wysokiej z możliwością wykorzystania metod in vitro do produkcji materiału nasadzeniowego.

O rozpoznawalności dr Marceliny Krupa-Małkiewicz w międzynarodowym środowisku naukowym świadczy 13 recenzji manuskryptów, które wykonała na zaproszenie redakcji czasopism w większości posiadających współczynnik wpływu WoS, takich jak: *Plants*, *European Journal of Horticultural Science*, *Notulae Scientia Biologicae*, *Journal of Central European Agriculture*, *International Journal of Molecular Sciences*, *PHYTON* i innych.

Współpracowała także z belgijską firmą BIO MINERALS N.V., Research & Development, Regulatory Affairs (Destelbergen) realizując badania dotyczące akumulacji krzemu w roślinach. W dziale naukowym tej firmy zaplanowała staż w 2020 r., jednak ze względu na ograniczenia spowodowane pandemią COVID-19, wyjazd został odłożony.

Aktywność naukowa dr Marceliny Krupa-Małkiewicz została doceniona przez władze Uczelni ZUT. Była trzykrotnie nagrodzona (w 2009, 2019 i 2020 r.) Nagrodą J M Rektora Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych (PTNO) oraz Polskiego Towarzystwa Genetycznego (PTG), w którym w latach 2013-2016 była członkiem komisji rewizyjnej Oddziału Szczecińskiego.

Należy zaznaczyć, że wyniki wszystkich badań, w których uczestniczyła w roli badacza wiodącego lub współpracującego były publikowane w krótkim czasie po zakończeniu prac eksperymentalnych w czasopismach naukowych krajowych a ostatnio,

trzeba to podkreślić, głównie w międzynarodowych. Co bardzo cenne, wyniki badań są dostępne dla środowiska naukowego oraz zainteresowanych daną tematyką producentów.

Podsumowując pozostały dorobek publikacyjny oraz aktywność naukową dr Marceliny Krupa-Małkiewicz, które znacząco wzrosły po uzyskaniu stopnia doktora, uważam, że wniosła istotny wkład w rozwój badań nad indukowaniem zmienności genetycznej i reakcji roślin na stres zasolenia. Z kolei prace dotyczące związków łagodzących negatywne efekty stresu solnego oraz te związane z opracowywaniem lub optymalizacją metod mikrorozmnażania roślin mają duży potencjał aplikacyjny. Wszystkie badania prowadziła we współpracy z innymi badaczami, co jest szczególnie pożądane w dobie rosnącej specjalizacji, gdzie do rozwiązywania problemów badawczych konieczna jest praca zespołu specjalistów z różnych dziedzin. W związku z powyższym uważam, że Habilitantka spełnia wymagania w tym zakresie stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

4. Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego

Dorobek dydaktyczny Habilitantki jest ponadprzeciętny. Od 2018 r. sprawuje opiekę naukową nad dwiema doktorantkami w charakterze promotora pomocniczego. W swojej macierzystej jednostce w latach 2010-2019 była promotorem 12 prac magisterskich studentów różnych wydziałów i kierunków: Biotechnologii (WBiHZ), Ogrodnictwa (WKŚiR) i Mikrobiologii (WTŻiR). W latach 2011-2021 pełniła funkcję promotora 8 prac inżynierskich studentów kierunku Biotechnologia na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt (WBiHZ). Powierzono jej recenzowanie 4 prac inżynierskich i 16 magisterskich.

Na swojej macierzystej uczelni w okresie od 2014 do 2020 habilitantka brała aktywny udział w przygotowaniu i prowadzeniu zajęć w języku angielskim dla studentów zagranicznych w ramach projektu europejskiego POWER „ZUT 2.0 – Nowoczesny Zintegrowany Uniwersytet”, Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego oraz Funduszu Spójności.

Aktywnie włączała się w działalność swojej uczelni będąc członkiem kilku komisji: kwalifikującej wnioski na wyjazdy dydaktyczne nauczycieli akademickich w ramach programu ERASMUS+ (2016-2024), komisji egzaminów dyplomowych studentów I i II° na dwóch wydziałach swojej uczelni (2009 – 2014), czy Komisji Uczelnianej sesji Studenckich Kół Naukowych (2009 r.). Była też członkiem Zespołu ds. programu dydaktycznego na kierunku Uprawa Winorośli i Winiarstwo na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa.

Pełniła funkcje sekretarza komitetu organizacyjnego konferencji naukowej pt. „Nowe osiągnięcia polskich zespołów badawczych z dziedziny genetyki, hodowli i biotechnologii roślin” zorganizowanej w 2016 r. w Międzyzdrojach.

O aktywności Habilitantki na polu współpracy z podmiotami gospodarczymi świadczą prace badawcze, które realizowała na zlecenie gospodarstwa szkółkarskiego, dotyczące opracowania metody rozmnażania in vitro borówki wysokiej. Na zleceni firmy Winnica

Pałacu Rajkowo w Przeclawiu optymalizowała metodę mikrorozmnażania winorośli a dla firmy Yara Poland Sp. z o.o., badała wpływ preparatu krzemowego (Actisil Hydroplus®) na wzrost roślin różnych gatunków ogrodnich.

Współpracowała również z Drawieńskim Parkiem Narodowym przy odtwarzaniu starych odmian jabłoni i zakładaniu sadu dydaktycznego oraz z Ogrodem Dendrologicznym w Przelewicach w ramach introdukcji gatunków roślin będących pod ochroną.

O popularności habilitantki wśród lokalnej społeczności może świadczyć powołanie jej na Członka Rady Naukowo-Programowej Polickiego Uniwersytetu Trzeciego Wieku, gdzie pełni tę funkcję od 2012 r.

Podsumowując, dr inż. Marcelina Krupa-Małkiewicz jest bardzo zaangażowanym pracownikiem akademickim, aktywnie włącza się w działalność organizacyjną swojej uczelni i stale podnosi kwalifikacje zawodowe. W związku z tym oceniam pozytywnie jej dorobek dydaktyczny, organizacyjny i popularyzatorski.

Wniosek końcowy

Uwzględniając cały dorobek naukowy, jego wartość poznawczą i aplikacyjną oraz znaczący dorobek dydaktyczny, organizacyjny i popularyzatorski, oceniam pozytywnie jej osiągnięcia i stwierdzam, że stanowią one istotny wkład w rozwój nauki oraz uważam, iż jest dobrym kandydatem na samodzielnego pracownika naukowego. Stwierdzam jednocześnie, że zostały spełnione wymagania określone w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. 2018 r., poz. 1668) i wnioskuję o dopuszczenie dr inż. Marceliny Krupa-Małkiewicz do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

KIEROWNIK

ZAKŁADU BIOLOGII STOSOWANEJ


dr hab. Małgorzata Podwyszyńska prof. IO