

Olsztyn, 29.11.2021 r.

dr hab. inż. Elżbieta Suchowilska, prof. UWM
Nauki rolnicze: Rolnictwo i Ogrodnictwo
Katedra Genetyki, Hodowli Roślin i Inżynierii Biosurowców
Wydział Rolnictwa i Leśnictwa
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Recenzja osiągnięcia naukowego pt.:

**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**

- cykl 7 publikacji

oraz dorobku naukowego

Dr inż. Marceliny Krupa-Mańkiewicz

**ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo**

wykonana na zlecenie

Przewodniczej Rady
Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

1. Najważniejsze fakty z życiorysu zawodowego Kandydatki

Dr inż. Marcelina Krupa-Mańkiewicz w roku 2002 uzyskała tytuł zawodowy magistra inżyniera na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt Kierunek: Biotechnologia, specjalizacja: biotechnologia w produkcji roślinnej. Praca magisterską wykonała w Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych, Akademii Rolniczej w Szczecinie na temat: „Zmienność elektroforetyczna białek zapasowych różnych odmian pszenżyta (*X Triticosecale* Wittmack)” (Promotor: prof. dr hab. Danuta Rzepka-Plevneš). W tym samym roku ukończyła Studium Pedagogiczne na Akademii Rolniczej w Szczecinie. W roku 2007 uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa, nadany decyzją Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Akademii Rolniczej w Szczecinie. Temat rozprawy doktorskiej brzmiał: „Zmiany fenotypowe i genotypowe u kalanchoe (*Kalanchoë* sp. kalanchoe) i petunii (*Petunia grandiflora*) wywołane mutagenami chemicznymi”. Praca została wykonana pod opieką Pani Promotor

prof. dr hab. Danuty Rzepka-Plevneš. W latach 2007-2008 była zatrudniona na etacie asystenta (z doktoratem), w Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Akademii Rolniczej w Szczecinie. Od 01 września 2008 pracuje na etacie adiunkta w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Przedłożona przez Habilitantkę do oceny dokumentacja jest starannie i poprawnie przygotowana. Zawiera wszystkie niezbędne załączniki, co umożliwia dokonanie rzetelnej i wnikliwej oceny wszystkich dotychczasowych Jej osiągnięć.

2. Ocena osiągnięcia naukowego wymienionego w ustawie z 20 lipca 2018 r. w art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3, Dz.U. 2018, poz. 1668 ze zm.

Jako osiągnięcie naukowe w świetle Ustawy, Habilitantka przedkłada cykl siedmiu oryginalnych prac twórczych zatytułowany: „**Wykorzystanie metod biotechnologicznych do otrzymania somaklonów petunii (*Petunia x atkinsiana* D. Don) o podwyższonej tolerancji na stres wywołany zasoleniem oraz ocena możliwości łagodzenia negatywnych skutków tego stresu poprzez zastosowanie substancji biologicznie czynnych**”.

- H1) **Krupa-Mańkiewicz M***, Kosatka A., Smolik B., Sędzik M. 2017. Induced mutations through EMS treatment and in vitro screening for salt tolerance plant of *Petunia x atkinsiana* D. Don. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj- Napoca* 45(1): 190-196. DOI:10.15835/nbha45110578.
- H2) **Krupa-Mańkiewicz 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.
- H3) **Krupa-Mańkiewicz 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.
- H4) **Krupa-Mańkiewicz M***, Fornal N. 2018. Application of chitosan in vitro to minimize the adverse effects of salinity in *Petunia x atkinsiana* D. Don. *Journal of Ecological Engineering* 19(1)143-149.
- H5) **Krupa-Mańkiewicz 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
- H6) **Krupa-Mańkiewicz M***, Smolik B. 2019. Alleviative effect of chitosan and ascorbic acid on *Petunia x atkinsiana* D. Don under salinity. *European Journal of Horticultural Science* 84(6):359-365. DOI: 10.17660/eJHS.2019/84.6.5
- H7) **Krupa-Mańkiewicz 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

Po drobnej korekcie, wynikającej z podania przez Habilitantkę omyłkowo zaniżonej wartości współczynnika *impact factor* z roku 2021 **sumaryczny IF dla czterech prac wynosi 5,430** a nie 4,908 a ich **łącna wartość punktowa wg MNiSW z roku opublikowania jest równa 227** a nie jak podaje Habilitantka 207.

Udział własny Habilitantki w poszczególnych publikacjach wskazanych jako osiągnięcie naukowe polegał głównie na:

- sformułowaniu problemu badawczego i stworzeniu koncepcji badań,
- zdobyciu funduszy na badania oraz stworzeniu interdyscyplinarnego zespołu prowadzącego badania i zarządzanie nim,
- założeniu i prowadzeniu doświadczenia,
- przeprowadzeniu analiz statystycznych danych i współudziale w opracowaniu i interpretacji wyników,
- napisaniu pierwszej wersji manuskryptu, praca nad jego kolejnymi wersjami oraz ustosunkowaniu się do recenzji i korekcie drukarskiej

Pięć prac Habilitantki (z siedmiu) zostało opublikowanych w czasopismach posiadających *impact factor* (IF od 0,329 do 2,711). Profil czasopism, w których opublikowane zostały prace składające się na osiągnięcie naukowe w świetle Ustawy, odpowiada problematyce zawartej w publikacjach.

Problematyka badawcza przedstawiona w cyklu wymienionych publikacji wskazanych jako osiągnięcie naukowe w świetle Ustawy dotyczyła analizy fenotypowej, biochemicznej oraz genetycznej uwarunkowań związanych z indukowaną mutagenезą u petunii (*Petunia×atkinsiana* D. Don.) w kierunku tolerancji na stres zasolenia w kulturach *in vitro* oraz określenie wpływu substancji biologicznie czynnych w łagodzeniu skutków tego stresu.

Habilitantka postawiła sobie następujące cele badawcze:

1. Indukowanie zmienności mutacyjnej za pomocą mutagenu chemicznego EMS w kulturach *in vitro* kalusa petunii (H1);
2. Ocenę tolerancji otrzymanych na drodze mutagenезy chemicznej wariantów za pomocą markerów molekularnych i wyselekcjonowania starterów ISSR oraz RAPD przydatnych do wyodrębnienia wariantów o podwyższonej tolerancji na stres solny (H2, H3);
3. Ocenę wpływu substancji biologicznie czynnych (kwas askorbinowy), hormonów roślinnych (kwas giberelinowy), chitozanu, 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).

W publikacji [H1] celem badań było indukowanie zmienności somaklonalnej i mutacyjnej w kulturach kalusa petunii w aspekcie uzyskania somaklonów o podwyższonej tolerancji na stres zasolenia. Wykazano, że wyższe stężenie mutagenu oraz dłuższy czas ekspozycji działa inhibująco na wzrost tkanki kalusowej petunii. Z obserwacji cech

fenotypowych wynikało, że rośliny niemutowane były bardziej narażone na niekorzystne działanie stresu solnego, niż otrzymane warianty, o czym mógł świadczyć brak wykształconych u nich korzeni po potraktowaniu 100 mM roztworem NaCl. Rośliny petunii stanowiące kontrolę charakteryzowały się wyższym wskaźnikiem EC w porównaniu do otrzymanych linii potencjalnych mutantów. Prawdopodobnie mogło mieć na to wpływ szybsze tempo wzrostu tych eksplantatów w początkowej fazie kultury w stosunku do pozostałych roślin. Stres solny znacząco wpłynął na wzrost stężenia proliny oraz nieznaczny spadek dialdehydu malanowego (MDA). Natomiast u linii wariantów M1 i M2 obserwowano wyższe stężenie Chl a, Chl b i karotenoidów, niż u roślin niemutowanych, na pożywkach testujących.

Najważniejszym osiągnięciem w pracy było wykazanie, że otrzymane linie wariantów M1 i M2 wykazywały zwiększoną tolerancję na stres solny w porównaniu do roślin kontrolnych (niemutowanych). Optymalną dawką mutagenu EMS, która byłaby wystarczająca do uzyskania przydatnych mutantów, bez nadmiernego obumierania komórek, utrzymując przy tym zdolność regeneracji roślin jest stężenie 0.5 mM i moczenie eksplantatów w czasie 60 lub 120 min. Połączenie kultur in vitro z indukowaną mutagenezą chemiczną, pozwoliło uzyskać warianty cechujące się podwyższoną tolerancją na działanie stresu solnego.

W pracy [H2] postawiono za cel określenie zmienności genetycznej przy użyciu markerów RAPD i ISSR, wyselekcjonowanych pojedynków petunii (*Petunia×atkinsiana* D. Don) stanowiących próbę zbiorczą (BSA) roślin kontrolnych, wariantów otrzymanych na drodze indukowanej mutagenezy oraz wariantów wykazujących podwyższoną tolerancję na stres solny w kulturach in vitro. Każda z prób zawierała po 12 pojedynków wyselekcjonowanych pod względem zmian cech fenotypowych i reakcji na czynnik stresowy. Reakcję amplifikacji PCR przeprowadzono z 36. dekamerowymi starterami RAPD oraz 16. starterami ISSR. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych wytypowano markery molekularne różnicujące próbę kontrolną i próby zbiorcze roślin poddanych działaniu mutagenu chemicznego oraz wskazano ich wstępną korelację ze zwiększoną tolerancją na stres zasolenia. Ponadto, zaobserwowano dwa typy segregacji produktów amplifikacji w obrębie badanych grup zbiorczych, otrzymanych przy użyciu starterów ISSR i RAPD. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych wytypowano markery molekularne różnicujące próbę kontrolną i próby zbiorcze roślin poddanych działaniu mutagenu chemicznego oraz wskazano ich wstępną korelację ze zwiększoną tolerancją na stres zasolenia. Ponadto, zaobserwowano dwa typy segregacji produktów amplifikacji w obrębie badanych grup zbiorczych, otrzymanych przy użyciu starterów ISSR i RAPD. Pierwszy typ polimorfizmu widoczny był wśród roślin stanowiących próbę kontrolną i roślin zregenerowanych z kalusa traktowanego 0.5 mM roztworem mutagenu EMS. Stosując do analizy genetycznej markery RAPD otrzymano 17% produktów różnicujących, a przy użyciu ISSR – 14%. Drugi typ polimorfizmu widoczny był wśród roślin zregenerowanych z kalusa traktowanego 0.5 mM roztworem mutagenu EMS oraz roślin zregenerowanych z kalusa traktowanego 0.5 mM EMS i testowanych na pożywce selekcyjnej MS z dodatkiem soli (NaCl). Zaobserwowano 22% produktów różnicujących otrzymanych w reakcji amplifikacji z 16. starterami RAPD i 44% dla 11. starterów ISSR. Identyfikacja wielu markerów molekularnych różnicujących analizowane próby zbiorcze

potwierdziła, że występowanie zwiększonej tolerancji na zasolenie, jako czynnik stresowy kontrolowana jest przez wiele loci znajdujących się w wielu miejscach w genomie.

Uzyskane wyniki stanowiły podstawę do dalszych badań, których celem było określenie różnicowania genetycznego wyselekcjonowanych pojedynków [H3]. Do identyfikacji otrzymanych zmian fenotypowych na wybranych pojedynkach petunii (kontrolnych, mutowanych z użyciem 0.5 mM EMS, mutowanych z użyciem 0.5 mM EMS i testowanych na pożywkach z dodatkiem NaCl) wykorzystano 20 markerów RAPD. Wyboru pojedynków dokonano na podstawie różnic morfologicznych obserwowanych w kulturach *in vitro* wariantów w porównaniu do kontroli (rośliny nie mutowane). Spośród zastosowanych markerów RAPD, tylko markery odróżniające próbę kontrolną od otrzymanych wariantów uważano za związane z indukowaną mutacją. Potwierdziły one występowanie dwóch typów segregacji, które otrzymano na wcześniejszym etapie badań przeprowadzonych na próbach zbiorczych. Pierwszy dotyczył różnic pomiędzy roślinami kontrolnymi i mutowanymi. Natomiast drugi typ segregacji dotyczył różnic występujących w obrębie otrzymanych wariantów i wariantów testowanych na zasolenie. Uzyskane wyniki badań wykorzystano do określenia drzewa podobieństwa genetycznego w obrębie badanych pojedynków petunii. Krótki dystans genetyczny pomiędzy kontrolą a wariantami EMS może sugerować, że zastosowany czynnik stresowy (zasolenie) może generować dodatkowo zmiany na poziomie DNA. Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły na identyfikację wariantów (mutantów) charakteryzujących się podwyższoną tolerancją na stres zasolenia. Dało to możliwość wczesnej selekcji pożądaných genotypów, jeszcze przed ich adaptacją do warunków *in vivo*.

W oparciu o otrzymane wyniki badań Habilitantka realizowała kolejne zadanie badawcze [H4], którego celem było sprawdzenie efektywności działania egzogenego kwasu askorbinowego (AsA) i kwasu giberelinowego (GA3) na cechy morfologiczne i parametry biochemiczne oraz barwę liści (CIE L*a*b*) dwóch odmian petunii, Prism Red i Prism White, w warunkach stresu solnego. Wykazano, że dodatek do pożywki MS wysokiego stężenia soli całkowicie zahamował wzrost roślin obu odmian petunii. Ponadto, sól (NaCl) wywołała stres oksydacyjny u petunii, co skutkowało wzrostem poziomu peroksydacji lipidów i stężenia proliny oraz zmniejszeniem zawartości barwników fotosyntetycznych i niefotosyntetycznych. Obecność w pożywce selekcyjnej MS substancji biologicznie czynnej (AsA i/lub GA3) wykazała stymulujący wpływ na wzrost roślin oraz liczbę nowych pędów na roślinie, ale nie miała wpływu na długość i liczbę korzeni. Jednocześnie, zaobserwowano, że dodatek AsA do podłoża MS w warunkach stresu solnego (osobno lub w połączeniu z GA3) wyraźnie wpływał na spadek stężenia proliny w badanych roślinach petunii odmiany Prism Red (od 43.7% do 50.1%) i Prism White (od 50.4% do 63.1%) oraz na zmniejszenie zawartości dialdehydu malanowego (końcowego produktu peroksydacji lipidów) o 36% u odmiany Prism Red i o 13.2% u Prism White. Działanie stresu solnego istotnie wpłynęło również na obniżenie zawartości barwników fotosyntetycznych (chlorofili Chl a, Chl b) i karotenoidów w liściach badanych odmian petunii w porównaniu do kontroli. W badaniach wykazano możliwość neutralizowania skutków działania wysokiego stężenia soli na rośliny petunii przez dodatek kwasu askorbinowego i kwasu giberelinowego do pożywki MS w warunkach *in vitro*. Jednakże, sposób w jaki dodatek

GA3 może indukować zwiększenie tolerancji na zasolenie u roślin petunii, nie został jeszcze wystarczająco poznany.

W kolejnej pracy [H5] Habilitantka podjęła się próby określenia wpływu chitozanu o różnej masie molowej i stężeniu na stabilizację kultur petunii (*Petunia x atkinsiana* D. Don) poddanych działaniu stresu solnego w warunkach in vitro. W pierwszym etapie dokonano wyboru najlepszego stężenia chitozanu mającego stymulujący wpływ na cechy morfologiczne petunii namnażanej w kulturach in vitro. W drugim etapie określono wpływ wybranego chitozanu w stężeniu 15 ppm i masie molowej 970 kDa na łagodzenie skutków stresu solnego u petunii w warunkach in vitro. Analizując wyniki badań zauważono, że chitozan o masie molowej 970 kDa wykazał najwyższą efektywność w minimalizowaniu niekorzystnego wpływu soli (NaCl) na cechy morfologiczne petunii odmiany Prism White. Eksplantaty z pożywki MS uzupełnionej 15 ppm chitozanu o masie molowej 970 kDa i 100 mM NaCl charakteryzowały się dłuższymi pędami i korzeniami oraz posiadały wyższą zawartość wody w tkance, w porównaniu do eksplantatów z pożywki MS z dodatkiem 100 mM NaCl. Nie bez znaczenia jest także masa molowa chitozanu oraz jego stężenie. Efekt działania chitozanu w łagodzeniu stresu solnego u petunii polegał na stymulowaniu wzrostu pędów oraz formowania korzeni. Wykazano wysoką skuteczność chitozanu jako stymulatora wzrostu eksplantatów petunii namnażanej w kulturach in vitro.

Kontynuacją badań zaprezentowanych w publikacji [H5] było porównywanie skuteczności działania kwasu askorbinowego oraz chitozanu w łagodzeniu skutków negatywnego działania NaCl na rośliny petunii (*Petunia x atkinsiana* D. Don) w warunkach polowych [H6]. Głównym celem badań było określenie skuteczności zastosowania egzogenego kwasu askorbinowego (AsA) i chitozanu na cechy i parametry biochemiczne oraz barwę liści petunii w warunkach stresu zasolenia in vivo. Rośliny petunii podlewano roztworem NaCl (6 g L^{-1}), roztworem 1mM kwasu askorbinowego i 20 ppm chitozanu o masie molekularnej 8 kDa, w pięciu kombinacjach. Kontrolę stanowiły rośliny podlewane wodą destylowaną. Zaobserwowano, że podlewanie roślin roztworem chitozanu lub roztworem kwasu askorbinowego w warunkach stresu solnego nie wykazało znaczącego wpływu na długość i liczbę korzeni, ale stymulowało wzrost długości pędu, a także suchą i świeżą masę, w porównaniu do roślin traktowanych roztworem NaCl. Dodatek soli do podłoża wpłynął znacząco na obniżenie koncentracji barwników fotosyntetycznych oraz karotenoidów, a także wzrost stężenia proliny i kwasu malanodialdehydowego (MDA) w liściach petunii w porównaniu do kontroli. Wyniki badań potwierdziły pozytywny wpływ chitozanu i kwasu askorbinowego na względną zawartość wody w roślinach oraz wzrost aktywności antyoksydacyjnej, który przekłada się na przywrócenie równowagi hormonalnej w roślinach będących pod wpływem stresu solnego.

W kolejnym etapie badań uwagę Habilitantki zwróciły doniesienia literaturowe o pozytywnym oddziaływaniu krzemu na rośliny kumulujące ten pierwiastek w tkankach. W literaturze przedmiotu niewiele jest badań dotyczących roślin nieakumulujących krzemu, do których należy petunia (*Petunia x atkinsiana* D. Don). W pracy [H7] zbadano wpływ komercyjnego roztworu krzemu (Hydroplus™ Actisil) na cechy morfologiczne, biochemiczne

oraz kwitnienie roślin petunii w warunkach in vitro i w warunkach polowych. W badaniach wykazano, że suplementacja roztworem krzemu miała wpływ na wzrost i parametry biochemiczne roślin petunii w warunkach in vitro i polowych. Efekt ten był jednak zróżnicowany w zależności od stężenia, sposobu aplikacji, części rośliny oraz etapu jej wzrostu. Mimo, że w warunkach in vitro roztwór Actisilu zadziałał jako czynnik stresowy, co potwierdziły uzyskane wyniki badań biochemicznych, to pozytywnym aspektem było pojawienie się kwiatów. Korzystny wpływ Actisilu na rośliny petunii (jako nieakumulujące krzem) sugeruje możliwy udział tego pierwiastka w procesach fizjologicznych i/lub biochemicznych, a nie barierę fizyczną, jak w przypadku roślin akumulujących krzem.

Najważniejsze osiągnięcia poznawcze i aplikacyjne zaprezentowanych badań:

1. Dokonanie wyboru optymalnego stężenia mutagenu chemicznego siarczanu etylowometylowego (EMS), pozwalającego uzyskać wysoki współczynnik zmian fenotypowych i genotypowych oraz z minimalnym stopniem zmian chimerycznych u roślin petunii namnażanej i mutowanej w kulturach in vitro.
2. Zregenerowanie populacji somaklonów petunii o podwyższonej tolerancji na stres zasolenia, na drodze połączenia technik indukowanej mutagenезy oraz selekcji w kulturach in vitro.
3. Stwierdzenie, że wybrane techniki molekularne (ISSR, RAPD) mogą być przydatne do szybkiej selekcji wariantów petunii, cechujących się podwyższoną tolerancją na stres zasolenia, uzyskanych na drodze indukowanej mutagenезy i zmienności somaklonalnej.
4. Wskazanie na dwa typy segregacji dotyczące różnic pomiędzy roślinami kontrolnymi i mutowanymi petunii oraz różnic występujących w obrębie otrzymanych wariantów i wariantów testowanych na stres zasolenia w kulturach in vitro.
5. Przeprowadzenie selekcji w kulturach in vitro w kierunku stresu solnego, wskazało odmianę petunii Prism White jako wykazującą wyższą tolerancję na zadany stres w porównaniu do odmiany Prism Red i Prism Rose.
6. Zastosowanie substancji biologicznie czynnych, tj. kwasu askorbinowego, kwasu giberelinowego i chitozanu, jako dodatku do podłoża w kulturach in vitro, stanowi efektywną metodę pozwalającą na złagodzenie negatywnego działania stresu solnego na rośliny petunii.
7. Badanie wpływu komercyjnego roztworu krzemu (Hydroplus™ Actisil) na rośliny petunii należące do grupy nieakumulujących krzem, wykazały możliwość wykorzystania suplementacji tym pierwiastkiem do osiągnięcia efektywniejszego wzrostu i zwiększonego kwitnienia.

W swoim autoreferacie Habilitantka bardzo szczegółowo przedstawiła uzyskane wyniki. Biorąc pod uwagę powyższe uważam, że problematyka poruszana w pracach naukowych Kandydatki jest bardzo ważna i zasadna. Moja ocena osiągnięcia naukowego jest pozytywna, a na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż w przypadku wszystkich publikacji jest Ona pierwszym autorem i jednocześnie autorem korespondującym. Udział własny Habilitantki w pracach jest znaczący (oszacowany od 70-90%) i nie podlega dyskusji. Przedstawione publikacje spełniają również wymóg spójności tematycznej badań. Ocena tej części dorobku

Kandydatki daje mi wszelkie podstawy do sformułowania opinii, iż przedstawiony w formie cyklu siedmiu publikacji dorobek, wskazany jako osiągnięcie naukowe w świetle Ustawy, jest w pełni oryginalny i wartościowy. Poziom prac naukowych Dr inż. Marceliny Krupa-Małkiewicz jest wysoki. Świadczy o znacznym wkładzie Autorki w rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo, ma szczególne znaczenie dla rozwoju ogrodnictwa. Osiągnięcie naukowe Habilitantki wprowadza ponadto wiele elementów nowatorskich do nauki oraz poszerza wiedzę na temat niekorzystnych czynników środowiskowych takich jak zasolenie.

3. Dorobek i czasopisma, w których publikowane były pozostałe prace

Z wyłączeniem cyklu siedmiu publikacji naukowych wskazanych jako osiągnięcie naukowe w pkt. 2, Habilitantka jest współautorką łącznie **11 prac z Listy A** indeksowanych w bazie Web of Science Core Collection. **Liczba punktów** dla tych prac po drobnej korekcie wynosi **523** a nie jak podaje Habilitantka **545**. **Skumulowany Impact Factor** również po drobnej korekcie wynosi **16,487** a nie **14,595**. Habilitantka jest także współautorką **25 prac nie posiadających współczynnika IF**, których liczba **punktów** wynosi **279** a nie **323**. Ponadto Habilitantka jest współautorką **19 rozdziałów w monografiach** i **12 doniesień konferencyjnych**. **Łącznie kandydatka jest współautorką 43 publikacji** (z listy A i B), których liczba punktów wynosi **1029¹** a nie jak podaje Habilitantka **1163**. **Łączny IF dla wszystkich prac** wynosi **po korekcie 21,917** a nie **19,503**. Wszystkie prace z IF zostały opublikowane po doktoracie. Ewidentnie postęp w liczbie publikacji po ostatnim awansie jest bardzo duży.

Prace Kandydatki doczekały się **38 cytowań według bazy WoS**, przy indeksie **Hirscha= 3**, natomiast według bazy **Scopus liczby** te wynoszą odpowiednio **3** i **35**. Usprawiedliwieniem niskich wartości tych parametrów jest fakt, iż większość prac z IF ukazała się w latach 2019-2021, a więc nie mogły jeszcze osiągnąć znaczącego cytowania.

Prace Pani dr inż. Marceliny Krupa-Małkiewicz ukazały się w następujących czasopismach:

- indeksowane w Web of Science Core Collection:

Agronomy (1); Plant, Cell, Tissue and Organ Culture (1); Molecules (1); Scientia Horticulturae (1); Journal of Integrative Agriculture (1); Journal of Elementology (1); Phytton – International Journal of Experimental Botany (1); European Journal of Horticultural Science (1); Ciència Rural (1); Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca (3); Folia Horticulturae (1); Dendrobiology (1); Journal of Food, Agriculture and Environment (2)

- najważniejsze pozostałe czasopisma, nieposiadające IF:

Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis: Agricultura (1); Biuletyn IHAR (2); Acta Universitatis Cibiniensis Serie E: Food Technology (1); Journal of Ecological Engineering (1); Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica (13); Electronic Journal of Polish Agricultural Universities (2) Agricultural Science (1)...

¹ Punktację wszystkich publikacji (z listy A i B) przyjęłam zgodnie z rokiem opublikowania pracy.

Większość prac dr inż. Marceliny Krupa-Mańkiewicz to publikacje wieloautorskie co przy charakterze wykonywanych przez Nią badań eksperymentalnych jest obecnie standardem. Tematyka publikacji (niestanowiących osiągnięcia naukowego Habilitantki w świetle Ustawy [...]) jest różnorodna i znajduje się w obszarze trudnych badań z zakresu biotechnologii i hodowli roślin, których głównym celem było znalezienie odpowiedzi roślin na stres abiotyczny (zasolenie, susza, metale ciężkie). W aktywności naukowo-badawczej Habilitantki można wyróżnić kierunki bezpośrednio związane z głównym nurtem jej zainteresowań, jak i te, których realizacja umożliwiła jej zdobycie doświadczenia w posługiwaniu się nowymi technikami i metodami badawczymi.

W Jej aktywności naukowo-badawczej można wyróżnić dwa etapy: pierwszy z nich dotyczył zgłębiania technik kultur in vitro i poszerzania zakresu zmienności.

Przed wszystkim prace polegały tutaj na:

- indukowaniu zmienności mutacyjnej,
- optymalizacji warunków prowadzenia kultur in vitro różnych gatunków roślin,
- zastosowaniu dodatków organicznych do pożywek w celu intensyfikacji organogenezy eksplantatów,
- prowadzeniu kultur in vitro roślin drzewiastych,
- charakterystyki odpowiedzi wybranych genotypów roślin na stresy abiotyczne,
- charakterystyki cech morfologicznych oraz fizyko-chemicznych roślin sadowniczych.

Drugi etap badań w działalności badawczej dotyczył głównie:

- wykorzystania techniki SDS-PAGE w obrębie prolamin pszenżyta,
- wykorzystaniu techniki opartej na reakcji PCR w obrębie kolekcji drzew i krzewów w ramach współpracy naukowej z Ogrodem Dendrologicznym w Przelewicach,

Badania prowadzone przez Habilitantkę były finansowane z grantów badawczych (doktorskich, habilitacyjnych) ze środków Uczelni, z badań statutowych jednostki oraz grantu NCN nr N310 205737 („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”) i grantu Agencji Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa nr 00020.DDD.6509.00056.2019.16 („Wino bez siarki: innowacyjne technologie w winnicy i winiarni wspierające ograniczenie dodatku siarki do win gronowych”).

Tematyka prowadzonych badań naukowych wymagała od Habilitantki zdobycia gruntownej wiedzy oraz opracowania i wdrożenia różnych metod służących zbadaniu genomu roślinnego na poziomie molekularnym. Po zapoznaniu się z pracami Pani dr inż. Marceliny Krupa-Mańkiewicz mogę z przekonaniem stwierdzić, że jest Ona bezspornie specjalistą w swojej dziedzinie. Podsumowując tę część dorobku Kandydatki konstatuję, że jest on zauważalnie sprofilowany. Uważam, że całkowity dorobek naukowy Kandydatki jest wartościowy naukowo o dużym znaczeniu dla rozwoju dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Spełnia on zarówno pod względem ilościowym jak i jakościowym wymagania ustawowe stawiane przed kandydatami do stopnia doktora habilitowanego.

4. Ocena istotnej aktywności badawczej, współpracy międzynarodowej, dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego habilitanta

4.1 Pozostała działalność naukowo-badawcza

Pani dr inż. Marceliny Krupa-Małkiewicz po uzyskaniu stopnia doktora uczestniczyła w 5 konferencjach krajowych oraz w 4 międzynarodowych. Wygłosiła 4 referaty konferencyjne. Habilitantka znacząco zwiększyła aktywności konferencyjną po uzyskaniu stopnia doktora.

Pani Doktor odbyła łącznie 8 krótkoterminowych staży: dwa pierwsze w roku 2000 na Uniwersytecie Szczecińskim, na Wydziale Biologii w Katedrze Biologii Komórki oraz w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu.

Kolejne staże odbywała w latach 2018-2021 w:

- Instytucie Biologii na Wydziale Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, Centrum Badań i Ochrony Różnorodności Biologicznej,
- Zakładzie Biotechnologii i Bioinformatyki na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej.
- Winnicy Pałacu Rajkowo w Przecławiu,
- Gospodarstwie rolnym – Szkółkarstwo Karol Kroczyński w Odargowie, pow. Stargard,

Habilitantka miała zaplanowany staż międzynarodowy w firmie BIO MINERALS N.V., Research & Development/Regulatory Affairs, Destelbergen Belgia, ale niestety został on przełożony przez pandemię COVID-19.

W latach 2009-2021 Habilitantka podnosiła swoje kompetencje naukowe biorąc czynny udział w dziesięciu szkoleniach i warsztatach. Habilitantka była recenzentem 13 prac naukowych dla czasopism o międzynarodowym zasięgu. Pani dr inż. Marcelina Krupa-Małkiewicz była wykonawcą dwóch grantów finansowanych przez NCN i ARiMR. Ponadto jest promotorem pomocniczym dwóch doktorantów. Dodatkowo należy podkreślić owocną współpracę Habilitantki z firmą Yara Poland Sp z o o. Szczecin, BIO MINERALS N.V., Research & Development/Regulatory Affairs, Destelbergen, Belgium, Drawieńskim Parkiem Narodowym, Ogrodem Dendrologicznym w Przelewicach, Winnicą Pałacu Rajkowo oraz z Gospodarstwem rolnym – Szkółkarstwo Karol Kroczyński w Odargowie, pow. Stargard.

Ponadprzeciętna aktywność naukowa Habilitantki została wyróżniona 3-krotnie Nagrodą J.M. Rektora Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.

Po zapoznaniu się z informacjami dotyczącymi aktywności naukowo-badawczej zawartymi w przedłożonej mi do oceny dokumentacji stanowiącej podstawę do wykonania recenzji stwierdzam, że dane te świadczą o dużej aktywności naukowej Habilitantki.

4.2. Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Habilitantka opracowała i prowadziła wykłady, zajęcia laboratoryjne i audytoryjne z przedmiotów: Biotechnologia w hodowli roślin oraz Biotechnologia w ochronie roślin dla kierunku: Biotechnologia na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT w Szczecinie, jednocześnie pełniąc funkcję kierownika tych przedmiotów. Dodatkowo opracowała i prowadziła wykłady oraz zajęcia laboratoryjne w języku angielskim, będące w ofercie dla studentów zagranicznych w ramach programu ERASMUS, z przedmiotów: Basic of biotechnology, Abiotic and biotic stress in plants, Biotechnology in plant protection, Biotechnology of herbal plants – jest także kierownikiem tych przedmiotów. Habilitantka realizowała się również w ramach wykładów i ćwiczeń prowadzonych w ramach programów unijnych. Miała zaplanowany cykl wykładów w ramach Staff Mobility For Teaching (Erasmus +) na Universidad Miquel Hernandez de Elche Spain, Instituto de Bioingenieria – Hiszpania. Niestety nie doszły one do skutku z powodu obecnej pandemii i zostały przełożone na inny termin. Prowadziła wykłady oraz ćwiczenia z przedmiotów „Molecular breeding”; „Monitoring of transgenic crops”; „Abiotic stress in environmental protection” w ramach programu POWER pt. „Nowoczesny Zintegrowany Uniwersytet”, Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020. Pięciokrotnie brała czynny udział w Projekcie Europejska Noc Naukowców realizowanym w ramach Programu Ramowego Unii Europejskiej HORYZONT 2020, gdzie prowadziła warsztaty nt. „Rośliny zamknięte w szkle” oraz „Metody identyfikacji roślin będących pod ochroną” z tą samą tematyką warsztatów występowała również na: Zachodniopomorskim Festiwalu Nauki, Polickim Uniwersytecie Trzeciego Wieku w Policach. Prowadziła warsztaty także w ramach Dziecięcego Uniwersytetu im. prof. Jerzego Stelmacha – Szczecińska Szkoły Jungów organizowanej przez Morskie Centrum Nauki w Szczecinie.

Od maja 2016 roku pełni funkcję opiekuna naukowego Koła Naukowego Biotechnologów działającego na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa ZUT w Szczecinie, pełniła także funkcję opiekuna roku studentów kierunku Rolnictwo na macierzystym Wydziale. Promowała swój Wydział na Regionalnym Festiwalu naukowym E(x)plory w Szczecinie organizowanym przez Fundację Zaawansowanych Technologii. Była promotorem 12 prac magisterskich i 8 prac inżynierskich, dodatkowo recenzowała 20 prac dyplomowych. Pełniła funkcję opiekuna naukowego studentów z Agricultural University in Plovdiv (Bułgaria), realizujących praktyki studenckie między innymi w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin oraz w pracowni kultur in vitro w ramach programu ERASMUS. Sprawowała również nadzór merytoryczny nad uczniem z Liceum Katolickiego w Szczecinie realizującym eksperyment naukowy wymagany uczestnictwem w olimpiadzie biologicznej.

Wymienione osiągnięcia dydaktyczne są znaczące i świadczą o dużym zaangażowaniu Habilitantki w kształcenie nowych kadr.

Pani dr inż. Marcelina Krupa-Małkiewicz legitymuje się także znaczną aktywnością organizacyjną: jest członkiem Komisji Kwalifikacyjnej do oceny wniosków na wyjazdy dydaktyczne nauczycieli akademickich w ramach programu ERASMUS+. W latach 2013-2016 pełniła funkcję Członka Komisji rewizyjnej Oddziału Szczecińskiego Polskiego Towarzystwa Genetycznego. Była również Członkiem Zespołu ds. programu dydaktycznego na kierunku

Uprawa Winorośli i Winiarstwo na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa ZUT w Szczecinie. Od roku 2002 pełni funkcję Członka Rady Naukowo-Programowej Polickiego Uniwersytetu Trzeciego Wieku w Policach. W latach 2009-2014 była Członkiem Komisji egzaminów dyplomowych studentów I i II° na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt oraz na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa ZUT w Szczecinie. W roku 2009 była Członkiem Komisji 38 Uczelnianej sesji Studenckich Kół Naukowych Akademii Rolniczej w Szczecinie (obecnie ZUT w Szczecinie).

Brała również czynny udział w organizacji Konferencji Naukowej pt. „Nowe osiągnięcia polskich zespołów badawczych z dziedziny genetyki, hodowli i biotechnologii roślin”, 8-10 czerwiec 2016r. Międzyzdroje, gdzie pełniła funkcję sekretarza. Od roku 2008 jest członkiem Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych (PTNO), a od roku 2010 Polskiego Towarzystwa Genetycznego (PTG).

Podsumowując stwierdzam, że Habilitantka wykazuje się dużą aktywnością dydaktyczną, popularyzatorską jak też angażuje się w szereg działań organizacyjnych na rzecz macierzystej Uczelni. Szczególnie wysoko oceniam zaangażowanie w działalność dydaktyczną realizowaną w ramach międzynarodowych projektów: Erasmus, Horyzont oraz aplikacyjny charakter Jej badań i umiejętność współpracy z różnymi firmami. Tę część aktywności zawodowej Pani dr inż. Marceliny Krupa-Mańkiewicz oceniam szczególnie wysoko.

5. Wniosek końcowy

Analiza całokształtu dorobku naukowego dr inż. Marceliny Krupa-Mańkiewicz oraz Jej osiągnięć w zakresie działalności dydaktycznej i organizacyjnej przedstawionych mi do oceny w związku z wszczęciem przez Radę Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego, skłania mnie do przedłożenia Komisji habilitacyjnej wniosku w sprawie nadania dr inż. Marcelinie Krupa-Mańkiewicz stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Kandydatka wykazuje się istotną aktywnością naukową, przejawiającą się znacznym wzrostem w ostatnich latach liczby publikacji oryginalnych znajdujących się w bazie JCR, a ponadto aktywnym uczestnictwem w konferencjach krajowych i międzynarodowych, działalnością dydaktyczną oraz współpracą z ośrodkami naukowymi i firmami. W mojej opinii jest osobą bardzo dobrze przygotowaną do samodzielnej pracy naukowej.

W moim przekonaniu Habilitantka spełnia wszystkie wymagania stawiane osobom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora habilitowanego zgodnie z ustawą z dn. z 20 lipca 2018 r. w art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3, Dz.U. 2018, poz. 1668 ze zm.

