



Prof. dr hab. Marlena Lembicz  
Zakład Botaniki Systematycznej i Środowiskowej  
Wydział Biologii  
Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza  
w Poznaniu  
lembicz@amu.edu.pl

Poznań 26. 03. 2024 r.

**Ocena  
osiągnięcia naukowego oraz pozostałej aktywności naukowej,  
dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzacyjnej  
dr Doroty Krzyżanowskiej w związku z postępowaniem  
habilitacyjnym**

*Informacje o stopniach naukowych i przebiegu pracy zawodowej*

Pani dr Dorota Krzyżanowska (nazwana dalej Habilitantką) była doktorantką Studium Doktoranckiego Chemii i Biochemii przy Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Pracę doktorską w zakresie biochemii pod tytułem „Antagonizm szczepu *Pseudomonas* P482 względem bakteryjnych patogenów roślin z rodzajów *Pectobacterium* i *Dickeya* w warunkach *in vitro* i *in planta*” obroniła na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii UG i GUMed w roku 2015. W latach 2015-2018 Habilitantka była zatrudniona na etacie asystenta w ramach projektu NCN OPUS7 realizowanego w Zakładzie Mikrobiologii Roślin (wówczas: Pracownia Biologicznej Ochrony Roślin) na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii UG i GUMed, a w latach 2018 – 2021 jako *postdoc* w projekcie NCN OPUS13 w tej samej jednostce naukowej. Obecnie zajmuje stanowisko *lab manager* w projekcie NCN SONATA BIS w Zakładzie Badania Związków Biologicznie Czynnych, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed

*Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego*

Wskazane przez Panią dr Dorotę Krzyżanowska osiągnięcie naukowe pod tytułem „Wykorzystanie sekwencjonowania następnej generacji oraz metod analizy *in silico* do poznania właściwości wybranych ryzobakterii o potencjale do zastosowania w biologicznej ochronie roślin” ma formę czterech artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie z bazy JCR: PLoS ONE, Scientific Reports, Molecular Plant-Microbe Interactions.

Krzyżanowska D.M., Maciąg T., Ossowicki A., Rajewska M., Kaczyński Z., Czerwicka M., Rąbalski Ł., Czaplowska P. Jafra S.; *Ochrobactrum quorumnocens* sp. nov., a quorum quenching bacterium from the potato rhizosphere. PLoS ONE 2019, 14(1)

Krzyżanowska D.M., Supernat A., Maciąg T., Matuszewska M., Jafra S.; Selection of reference genes for measuring the expression of *aiiO* in *Ochrobactrum quorumnocens* A44 using RT-qPCR. Scientific Reports, 2019, 9, 13129

Krzyżanowska, D.M., Iwanicki, A., Czajkowski, R., Jafra, S.; High-quality complete genome resource of tomato rhizosphere strain *Pseudomonas donghuensis* P482, a representative of a species with biocontrol activity against plant pathogens. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2021, 34:12, 1450-1454

Krzyżanowska D.M., Jabłońska M., Kaczyński Z., Czerwicka-Pach M., Macur K., Jafra S. Host-adaptive traits in the plant-colonizing *Pseudomonas donghuensis* P482 revealed by transcriptomic responses to exudates of tomato and maize. Scientific Reports, 2023, 13(1), 9445

Habilitantka we wszystkich artykułach jest pierwszym autorem. W dwóch artykułach brała udział w tworzeniu koncepcji metod badań i koordynacji całości części eksperymentalnej, w pozostałych tworzyła/współtworzyła całość koncepcji badań oraz wykonywała eksperymenty i analizy wyników. W żadnym artykule Habilitantka nie jest autorem korespondencyjnym. Jest to dla mnie zaskoczenie, gdyż w charakterystyce udziałów w trzech artykułach (co jest potwierdzone przez współautorów) Habilitantka obok przeprowadzania eksperymentów i wykonywania analiz uzyskanych danych pisze, że : „miałam udział w tworzeniu koncepcji badań, napisałam pierwotną wersję manuskryptu • miałam wiodącą rolę w przygotowaniu odpowiedzi do recenzentów i uczestniczyłam we wprowadzaniu poprawek do ostatecznie przyjętej wersji pracy, miałam wiodącą rolę w przygotowaniu odpowiedzi do recenzentów i uczestniczyłam we wprowadzaniu poprawek do ostatecznie przyjętej wersji pracy”. Nie rozumiem, dlaczego Habilitantka, pisząc pierwszą wersję artykułu, a nawet mając jak pisze wiodącą rolę w procesie recenzji artykułu, nie była autorem korespondencyjnym. Rozumiałabym to, gdyby Habilitantka nie wskazała powyżej zacytowanych swoich udziałów. Szkoda, że tak się stało, gdyż muszę napisać, że fakt ten mnie zaniepokoił, być może niepotrzebnie i jest jakieś wyjaśnienie tego problemu na korzyść Habilitantki. Być może, jest to efekt podziału prac w zespole i funkcji jaką Habilitantka w nim pełniła. Jestem bowiem przekonana, że Habilitantka poradziły sobie z procesem

wysyłania artykułu do redakcji. Ze wskazanych udziałów przez Habilitantkę wynika, że dysponuje szerokimi umiejętnościami w pracach eksperymentalnych i analizach danych, bez nich nie byłoby możliwe rozwiązanie postawionego problemu badawczego. Habilitantka wykonywała w tych badaniach analizy filogenetyczne, analizę genomu pod kątem obecności klastrów kodujących metabolity wtórne, analizę danych RNAseq po ekspresji różnicowej, w tym analizę wzbogacenia ścieżek metabolicznych oraz sieciowania genów, przeprowadziła hodowlę bakterii w obecności eksudatów oraz izolację RNA, koordynowała zlecenie usługi RNAseq, analizę ekspresji genów metodą RT-qPCR, oceniała wydajności kolonizacji korzeni roślin przez szczep P482 (eksperyment doniczkowy) i wiele innych zadań.

Badania, w których brała udział Habilitantka dotyczą możliwości wykorzystania mikroorganizmów do zwalczania patogenów roślin i są one kontynuacją wcześniejszych prac, także w ramach doktoratu. Uzyskanie „pewności”, że dany organizm można zastosować w walce z patogenami wymaga przeprowadzenia wielu testów w celu poznania efektów interakcji między kandydatem do zwalczania patogena a patogenem. Jest to badanie interakcji podwójnych, potrójnych... Habilitantka wraz z zespołem testowała zdolność do negatywnego oddziaływania na bakterie pektynolityczne *Pectobacterium* spp. i *Dickeya* spp., powodujące mokrą zgniliznę gatunków roślin użytkowych jak ziemniak i ozdobnych. To koncepcja badań, która dostarczyła nowych faktów pozwalających zastosować alternatywne środki do zwalczania choroby ziemniaków czy innych roślin, w stosunku do metody dotąd stosowanej opartej na prewencji. Badania dostarczyły faktów dotyczących biologii dwóch Gram-ujemnych izolatów bakterii: *Ochrobactrum quorumnocens* A44 i *Pseudomonas donghuensis* P482 pozyskanych z ryzosfery roślin użytkowych z rodziny Solanaceae. Niewątpliwie to ważny krok w badaniach aplikacyjnych. Uzyskana wiedza przez zespół, w którym Habilitantka wykonywała badania to innowacja know-how, bez której nie byłoby możliwe bezpieczne wykorzystywanie tzw. „żywych narzędzi” do walki z chorobami roślin. Zastosowana koncepcja badań interakcji przez Habilitantkę jest zgodna z metodologią nauk ścisłych. W pełni zgadzam się z Habilitantką, że opublikowane wyniki badań poszerzają wiedzę na temat biologii wybranych mikroorganizmów związanych z roślinami, która jest niezbędna, jeśli planujemy zastosować mikroorganizmy biologicznej ochrony roślin przed chorobami. Biokontrolerzy stają się coraz bardziej realną alternatywą dla syntetycznych agrochemikaliów wykorzystywanych obecnie do zwalczania chorób roślin uprawnych. Organizmy te i ich produkty są postrzegane jako bezpieczniejsze, w stosunku do pestycydów czy antybiotyków i mają mniejszy negatywny wpływ na środowisko. Choć na rynku istnieje wiele już komercyjnych produktów zawierających mikrobiologiczne BCA to trwają

intensywne poszukiwania kolejnych biokontrolerów do zwalczania patogenów roślin uprawnych wśród bakterii i grzybów. Badania Habilitantki wpisują się w ten trend. Skuteczny biokontroler to nie tylko taki, który produkuje związki chemiczne zwalczające celowanego patogena. Ważne jest także, aby biokontroler i jego związki chemiczne nie wpływały negatywnie na fitness rośliny i jej przyszłe potomstwo. Trudno jest ocenić koszty - zyski i straty w interakcjach do których wprowadzamy dodatkowy kolejny organizm lub jego metabolity. Musimy jednak pamiętać, że tworzymy nową, sztuczną symbiozę, czyli rozpoczyna się także nowa gra ewolucyjna, której efekty musimy poznać zanim na szeroką skalę wprowadzimy na pola uprawne wybranego biokontrolera. Z ewolucyjnego punktu widzenia, osiągnięcie tej pewności jest trudne. Mierzone efekty początkowego działania biokontrolera mogą być inne w stosunku do tych, które pojawią się po upływie czasu. I nie muszą to być te efekty, których pożąдалиśmy. Stąd koncepcja badań eksperymentalnych *in vitro*, *in planta* i *in silico*, badań wieloaspektowych, w których zastosowano najnowsze technologie/narzędzia jakie dysponujemy obecnie żyjąc w erze „omiki”, w mojej opinii, zasługuje na wyróżnienie. Habilitantka jest świadoma badania skomplikowanych interakcji jakie mają miejsce w NATURZE w uproszczonych układach eksperymentalnych oraz znaczenia technologii jak sekwencjonowanie następnej generacji (NGS; ang. Next Generation Sequencing), narzędzi do analizy danych *in silico* w tego typu badaniach. Habilitantka opanowała w/w technologie, które jak podkreśla, pojawiły się w trakcie jej kariery naukowej i umożliwiły Jej przejście od „niedoboru danych do ich nadmiaru”. Podoba mi się, że Habilitantka „wyczekuje” nowych rozwiązań (jest na nie otwarta) w analizie danych za pomocą sztucznej inteligencji, upatrując w niej narzędzie ułatwiające „holistyczną interpretację danych w kontekście rosnącego wolumenu badań literaturowych”.

Czytając artykuły Habilitantki i współautorów, szczególnie analizując wyniki i ich interpretację, uważam, za najważniejsze i nowatorskie w odniesieniu do badanych organizmów i interakcji między nimi:

- (1) zdiagnozowanie taksonomiczne szczepu *Ochrobactrum* sp. A44, uzyskanie dla tego szczepu oraz szczepów spokrewnionych sekwencji genomowych, a także określenie różnic i podobieństw w obrębie badanej grupy szczepów na drodze analiz biochemicznych oraz analizy porównawczej genomów. Wyodrębnienie nowego gatunku *Ochrobactrum quorumnocens*, wskazanie szczepu A44T jako szczepu typowego i zdeponowanie kultury szczepu w kolekcjach międzynarodowych. Prawidłowa identyfikacja i analiza filogenetyczna taksonu, który ma być

wykorzystany w badaniach aplikacyjnych jest niezbędna, aby badania mogły być powtarzalne.

- (2) dostarczenie nowych faktów, że większość szlaków specyficznych dla gospodarza roślinnego, które Habilitantka opisała, jest związana z odpornością na stres. W czasie wzrostu *in vitro* dodatek eksudatów stymulował, a nie hamował wzrost P482.
- (3) ocena potencjału szczepu P482 do produkcji metabolitów wtórnych.
- (4) odkrycie sekwencji pojedynczego, przypuszczalnie nienaruszonego (aktywnego) profaga o długości 57 737 bp. Na podstawie genów strukturalnych Habilitantka, że wykryty profag należy do rzędu *Caudovirales* i rodziny Siphoviridae. Rola obecności tego profaga w genomie P482 jest nieznana – to problem do dalszych badań Habilitantki.

#### *Ocena pozostałej aktywności naukowej i udział w projektach badawczych*

Habilitantka jest współautorką łącznie 16 artykułów w czasopismach naukowych, jednego rozdziału w książce, 3 przyznanych patentów. Stwierdzam istotny wzrost publikacji po doktoracie. Pragnę podkreślić, że Habilitantka pracując na stanowisku *lab manager* musiała wykazać się dobrą organizacją pracy tj. optymalnie dzielić swój czas na obowiązki związane z pełnioną funkcją a badaniami naukowymi. Za najważniejsze wyniki w tej kategorii zaliczam; (1) opracowanie składu mieszaniny bakterii antagonistycznych, które efektywnie hamują symptomy mokrej zgnilizny powodowane przez *Pectobacterium* i *Dickeya* spp. na bulwach ziemniaka w warunkach przechowywania i przygotowanie formułacji biopreparatu na bazie w/w. konsorcjum, (2) wykazanie, po przeprowadzeniu analiz genomicznych typu data mining, że w genomach badanych bakterii nie ma genów znanych z produkcji toksyn, które mogłyby wpływać na konsorcjum bakterii zastosowanych do ochrony ziemniaka, (3) opracowanie metody do określania zdolności bakterii do tworzenia biofilmu w cewnikach i innych rurkach o zastosowaniu medycznym. Efektym praktycznym badań zespołu, w którym pracowała Habilitantka są trzy już przyznane patenty, w tym jeden europejski. Wszyscy twórcy mają zadeklarowany równy wkład w powstanie wynalazków objętych ochroną.

Habilitantka po uzyskaniu stopnia doktora brała udział w czterech projektach finansowanych przez NCN SONATA BIS 10 jako *lab manger* (aktualnie realizowany), NCN OPUS 13 jako Postdoc, NCBiR Lider VI jako główny wykonawca, NCN OPUS7 jako główny wykonawca. Habilitantka jest stypendystką różnych stypendiów. Do najważniejszych zdobytych przez Habilitantkę zaliczam: stypendium START przyznane w drodze konkursu

przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej w roku 2017, roczne stypendium ETIUDA1 (UMO-2013/08/T/NZ9/01049) przyznawane przez Narodowe Centrum Nauki w latach 2013/2014, roczne stypendium w ramach projektu „Kształcimy najlepszych – kompleksowy program rozwoju doktorantów, młodych doktorów i akademickiej kadry dydaktycznej Uniwersytetu Gdańskiego” na lata 2011/2012, oraz roczne stypendia z tzw. "dotacji projakościowej", przyznawane grupie najlepszych doktorantów realizujących projekty doktorskie na MWB-UG i GUMed w latach 2013/2014, 2012/2013, 2011/2012, roczne stypendium naukowe dla najlepszych doktorantów SD Chemii i Biochemii przy Wydziale Chemii UG w latach 2014/2015, 2013/2014, 2012/2013, 2010/2011.

*Aktywność naukowa realizowana w więcej niż jednej uczelni zagranicznej i polskiej*

Habilitantka odbyła trzy staże w zagranicznych ośrodkach naukowych: w Plant Research International (obecnie Wageningen Plant Research, WUR), w Nederlands Instituut voor Ecologie, w Centro Nacional de Biotecnología, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CNB-CSIC), Madryt, Hiszpania oraz jeden staż krajowy w komercyjnym laboratorium diagnostycznym (Bruss, grupa ALAB). Habilitantka w ramach tych staży była zaangażowana w badania naukowe poznając różne problemy rozwiązywane w danej jednostce. Efektem wymiernym udziału w stażach było ustalenie zainteresowań naukowych, wybór metod i technik do swoich badań oraz zbudowanie relacji „profesjonalnych” (wskazuje to Habilitantka), które zapewne pomogły Jej w pracy naukowej. Habilitantka staż w grupie dr Paoliny Garbeva w Nederlands Instituut voor Ecologie zakończyła publikacją Song i in. 2015. Wkład pracy Habilitantki w publikację to „utworzenie konstruktów plazmidowego umożliwiającego heterologiczną ekspresję syntetazy terpenów z *Collimonas* sp. Ter91 oraz przeprowadzenie testu aktywności przeciwbakteryjnej puli związków lotnych (VOCs)”.

*Aktywność dydaktyczna, popularyzatorska, organizacyjna*

**Aktywność dydaktyczna.** Habilitantka nie była zatrudniona na etacie naukowo-dydaktycznym i dydaktycznym. W związku z tym zajęcia ze studentami nie były dla Habilitantki obligatoryjne. Mimo to, Habilitantka będąc świadoma jak ważne jest dzielenie się wiedzą i warszatem badawczym z młodszymi, podejmowała zadania dydaktyczne na kierunku Biotecnologia na postawie „oficjalnych zleceń” i dla zainteresowanych studentów. Uważam, że rodzaj i różnorodność działań dydaktycznych podjętych przez Habilitantkę nie odbiega od aktywności dydaktycznej osób będących na etatach wymagających prowadzenia dydaktyki na uczelni. Jestem przekonana, że aktywność dydaktyczna Habilitantki pozwala na stwierdzenie, że potrafi ona pracować ze studentami, włączać ich w prace badawcze i

komunikować się z nimi. Habilitantka jest bowiem promotorem dwóch prac magisterskich, dwóch prac licencjackich, była członkiem komisji na pięciu egzaminach magisterskich, recenzowała prace magisterską, kierowała pracą studentów w ramach pracowni indywidualnej oraz praktykami w laboratorium studentów polskich i z zagranicy. Jest współautorką skryptu – Czajkowski i in. 2014 do ćwiczeń z przedmiotu Mikrobiologia przemysłowa. Habilitantka jest od marca 2023 roku promotorem pomocniczym jednego doktoratu.

**Aktywność popularyzacyjna.** Ta aktywność Habilitantki nie jest duża, ale wynika to zapewne z konieczności maksymalizowania swojego czasu na prace badawcze w związku z pełnioną funkcją, zwłaszcza w ostatnim projekcie. Mimo to Habilitantce „udało się” zaangażować w organizację stanowiska zatytułowanego *Fascynujące fakty z życia bakterii* na XI Bałtyckim Festiwalu Nauki oraz udzieliła wywiadu pt. „*Dobre bakterie ratują ziemniaki przed mokrą zgnilizną*”, opublikowanego na portalu „Nauka w Polsce”.

**Aktywność organizacyjna.** Działalność organizacyjna Habilitantki skupiała się na zadaniach przydzielonych Jej w związku z zajmowanym stanowiskiem. Habilitantka przeprowadzała szkolenia dla studentów zaczynających praktykę w laboratorium i prowadzenie stosownej dokumentacji (BHP), przygotowywała zamówienia i dokumentację przetargową na potrzeby realizacji wybranych projektów badawczych, koordynowała czynności serwisowe dla sprzętów będących na stanie Instytutu Biotechnologii. Habilitantka była członkiem komitetu organizacyjnego konferencji 16th Meeting of the IOBCWPRS Working Group Biological and Integrated Control of Plant Pathogens: Challenges in biocontrol - single strains versus synthetic consortia. Konferencja planowana była na 14-17 września 2020 (odwołana z p

## **Konkluzja**

Osiągnięcie naukowe Pani dr Doroty Krzyżanowskiej w postaci cyklu czterech artykułów opublikowanych w czasopiśmie z bazy *JCR* stanowi istotny wkład w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie biotechnologii, gdyż dostarcza nowych faktów dotyczących biologii na poziomie molekularnym interakcji między kandydatem na biokontrolera a patogenem roślin uprawnych. Dzisiaj tego typu badania są niezbędne, aby można było dysponując faktami naukowymi, podejmować jakiegokolwiek działania w celu zminimalizowania efektów negatywnych wywoływanych przez patogeny w uprawach roślin i ochronić istotnie ważne *ecosystem service* dla człowieka. Badania Habilitantki mogą stanowić wzorzec dla badań tzw. biokontrolerów jako alternatywę dla pestycydów zanim na szeroką skalę wprowadzimy na pola uprawne wybranego biokontrolera. Wartością dodaną

badan Habilitantki jest odkrycie sekwencji pojedynczego profaga o nieznannej jeszcze funkcji. To odkrycie potwierdza hipotezę, że przyroda to sieć interakcji symbiotycznych, których wiele znamy ale jeszcze większości nie znamy. Stąd nowe fakty tworzące wiedzę, są w mojej opinii, innowacja know - how, która jest pierwszym krokiem w badaniach aplikacyjnych. Publikacje Habilitanta znajdują się w obiegu międzynarodowym. Aktywność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzacyjna Habilitantki jest prawidłowa. Przedłożony mi wniosek Pani dr Doroty Krzyżanowskiej do oceny jest przygotowany perfekcyjnie/estetycznie i zawiera wszystkie wymagane załączniki.

Z pełnym przekonaniem i odpowiedzialnością stwierdzam, że przedstawione mi osiągnięcie naukowe oraz pozostała aktywność naukowa, dydaktyczna, organizacyjna i popularyzacyjna Pani dr Doroty Krzyżanowskiej spełnia wymogi stawiane w art. 219 ust 1 pkt 1-3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021 r. poz. 478 ze zm.) w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. W związku z tym pozytywnie opiniuję wniosek o nadanie Pani dr Dorocie Krzyżanowskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych dyscyplinie biotechnologia.

*(prof. dr hab. Marlena Lembicz)*