



INSTYTUT GENETYKI ROŚLIN POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

Tel. centrala: 61 6550200, sekretariat: 61 6550255 E-mail: office@igr.poznan.pl www.igr.poznan.pl

NIP: 7811621455 REGON: 000326204 BDO: 000017736

Poznań, dnia 2 lutego 2022 roku

Dr hab. Lidia Błaszczuk
Zakład Mikrobiomiki Roślin
Instytut Genetyki Roślin
Polskiej Akademii Nauk
ul. Strzeszyńska 34
60-479 Poznań

RECENZJA

osiągnięcia naukowego stanowiącego znaczny
wkład w rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo oraz aktywności naukowej

dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo

Podstawą formalną wykonanej recenzji jest uchwała nr 2/2021/2022 Rady Naukowej Dyscypliny *rolnictwo i ogrodnictwo* Politechniki Bydgoskiej im. J.J. Śniadeckich w Bydgoszczy z dnia 19 listopada 2021, na podstawie której powierzono mi obowiązki Recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego Pani dr inż. Annie Marii Baturo-Cieśniewskiej.

Recenzja została przygotowana na podstawie dokumentacji otrzymanej w formie papierowej i elektronicznej w dniu 10 grudnia 2021 i obejmującej:

- wniosek dr inż. Anny Baturo-Cieśniewskiej w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego;
- dane wnioskodawcy dla recenzentów (Załącznik nr 1);
- kopie dyplomu uzyskania stopnia doktora (Załącznik nr 2);
- autoreferat w języku polskim (Załącznik nr 3) wraz z kopiami ośmiu publikacji P1-P8 składającymi się na osiągnięcie naukowe zatytułowane: „Wykorzystanie metod molekularnych opartych na technice PCR w identyfikacji oraz badaniach zróżnicowania genetycznego mikroorganizmów patogenicznych i niepatogenicznych dla roślin (Załącznik nr 3a);
- wykaz osiągnięć naukowych stanowiących wkład w rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo zawierający informacje o osiągnięciach naukowych, o których mowa w art. 219 ust. 1. pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.), informacje o aktywności naukowej, współpracy z otoczeniem społecznym i gospodarczym i informacje naukometryczne (Załącznik nr 4);
- oświadczenia dotyczące wkładu współautorów w powstanie publikacji przedłożonych przez Habilitanta jako osiągnięcie naukowe (Załącznik nr 5);
- kopie publikacji nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, wymienionych w punkcie II „Wykazu osiągnięć naukowych stanowiących wkład w rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo” (Załącznik nr 6);

- skan uchwały nr 2/2021/2022 Rady Naukowej Dyscypliny *rolnictwo i ogrodnictwo* Politechniki Bydgoskiej im. J.J. Śniadeckich w Bydgoszczy z dnia 19 listopada 2021.

Złożona dokumentacja spełnia wymogi formalne określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

SYLWETKA HABILITANTKI

Pani dr inż. Anna Baturo-Cieśniewska w 1997 roku ukończyła 5-letnie, jednolite studia magisterskie na kierunku *rolnictwo* i specjalności *ochrona roślin* na Wydziale Rolniczym Akademii Techniczno-Rolniczej (obecnie Politechniki Bydgoskiej im. J.J. Śniadeckich) w Bydgoszczy. Praca magisterska pt.: „Wpływ zmianowania na skład grzybów zasiedlających glebę spod uprawy grochu siewnego odmiany GRAPIS” została zrealizowana pod kierunkiem prof. dra hab. inż. Stanisława Sadowskiego w ówczesnej Katedrze Fitopatologii. Pani dr inż. Anna Baturo-Cieśniewska zakończyła studia z wynikiem bardzo dobrym i uzyskała tytułu magistra inżyniera.

W latach 1997–1998 Habilitantka realizowała studia podyplomowe w zakresie doskonalenia pedagogicznego dla młodych nauczycieli na ówczesnej Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy. Na tej samej uczelni, w latach 1998–2002, Pani dr inż. Anna Baturo-Cieśniewska odbyła 4-letnie studia doktoranckie, a prace doktorską realizowała pod kierunkiem prof. dra hab. inż. Czesława Sadowskiego. W dniu 11 stycznia 2002 roku uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie agronomia, który został nadany uchwałą ówczesnej Rady Wydziału Rolniczego Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy. Tytuł rozprawy doktorskiej Habilitantki brzmiał: „Zbiorowiska grzybów zasiedlających jęczmień jary i jego ryzosferę w ekologicznym i konwencjonalnym systemie uprawy w aspekcie fitopatologicznym”.

Pani dr inż. Anna Maria Baturo-Cieśniewska w latach 1997-2002 pracowała na stanowisku asystenta w ówczesnej Katedrze Fitopatologii Wydziału Rolniczego Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy. Od 2002 roku jest zatrudniona na stanowisku adiunkta w tej samej jednostce, obecnie Pracowni Mykologii Molekularnej, Fitopatologii i Entomologii Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii Politechniki Bydgoskiej.

OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Osiągnięciem naukowym przedstawionym przez Panią dr inż. Annę Marię Baturo-Cieśniewską jest spójny tematycznie cykl ośmiu prac (**P1-P8**) opublikowanych w latach 2011-2020 w języku angielskim i w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, w tym sześciu prac (**P2, P4-P8**) znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR). Cykl jest zatytułowany: „**Wykorzystanie metod molekularnych opartych na technice PCR w identyfikacji oraz badaniach zróżnicowania genetycznego mikroorganizmów patogennych i niepatogennych dla roślin**” i składa się z oryginalnych prac badawczych:

P1. Baturo-Cieśniewska A., Pusz W., Patejuk K., 2020. Problems, limitations, and challenges in species identification of Ascomycota members on the basis of ITS regions. *Acta Mycologica* 55 (1): Article 5512. doi.org/10.5586/am.5512. (MNiSW₂₀₂₀ **20 pkt.**)

P2. Prusiński J., Baturo-Cieśniewska A., Borowska M., 2020. Response of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) to mineral nitrogen fertilization and *Bradyrhizobium japonicum* seed inoculation. *Agronomy* 10, 1300. doi.org/10.3390/agronomy10091300. (IF₂₀₂₀ **2,603**; MNiSW₂₀₂₀ **100 pkt.**)

P3. Baturo-Cieśniewska A., Loddi G., Prusiński J., Łukanowski A., 2019. Effect of extraction method and DNA quality on the reliability of molecular detection of *Bradyrhizobium japonicum* in soybean rhizosphere. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 22(2) #05. <http://www.ejpau.media.pl/volume22/issue2/art-05.html>. (MNiSW₂₀₁₉ **5 pkt.**)

P4. Baturo-Cieśniewska A., Łukanowski A., Koczwara K., Lenc L., 2018. Development of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary on stored carrot treated with *Pythium oligandrum* Drechsler determined by qPCR assay. *Acta Scientiarum Polonorum seria Hortorum Cultus* 17 (5): 111-121. doi.org/10.24326/asphc.2018.5.10. (IF₂₀₁₈ **0,443**; MNiSW₂₀₁₈ **20 pkt.**)

P5. Baturo-Ciesniewska A., Groves C.L., Albrecht K.A., Grau C.R., Willis D.K. Smith D.L., 2017. Molecular identification of *Sclerotinia trifoliorum* and *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from the United States and Poland. *Plant Disease* 101: 192–199. doi.org/10.1094/PDIS-06-16-0896-RE. (IF₂₀₁₇ **2,941**; MNiSW₂₀₁₇ **35 pkt.**)

P6. Baturo-Ciesniewska A., Lenc L., Grabowski A., Lukanowski A., 2015. Characteristics of Polish isolates of *Fusarium sambucinum*: molecular identification, pathogenicity, diversity and reaction to control agents. *American Journal of Potato Research* 92: 49–61. doi.org/10.1007/s12230-014-9410z. (IF₂₀₁₅ **1,159**; MNiSW₂₀₁₅ **25 pkt.**)

P7. Baturo-Ciesniewska A., Andrzejewska J., Albrecht K., Sadowski Cz., Lenc L., 2013. First report of sclerotinia stem blight caused by *Sclerotinia trifoliorum* on *Trifolium ambiguum* in Poland. *Plant Disease* 97: 142. doi.org/10.1094/PDIS-07-12-0624-PDN. (IF₂₀₁₃ **2,742**; MNiSW₂₀₁₃ **35 pkt.**)

P8. Baturo-Ciesniewska A., Suchorzyńska M., 2011. Verification of the effectiveness of SCAR (sequence characterized amplified region) primers for the identification of Polish strains of *Fusarium culmorum* and their potential ability to produce B-trichothecenes and zearalenone. *International Journal of Food Microbiology* 148 (3): 168–176. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.017. (IF₂₀₁₁ **3,327**; MNiSW₂₀₁₁ **40 pkt.**)

Należy wspomnieć, że praca nr **P7** (Baturo-Ciesniewska A., Andrzejewska J., Albrecht K., Sadowski Cz., Lenc L., 2013. First report of sclerotinia stem blight caused by *Sclerotinia trifoliorum* on *Trifolium ambiguum* in Poland. *Plant Disease* 97: 142) ma formę raportu oznaczonego w czasopiśmie jako „disease notes”.

Sumaryczny Impact Factor (podany według roku publikacji), wszystkich publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe wynosi **13,215**, a łączna wartość punktowa, wg MNiSW jest równa **280**.

Wszystkie prace są współautorskie i liczą dwóch (**P8**), trzech (**P1-P2**), czterech (**P3, P4, P6**), pięciu (**P7**) i sześciu (**P5**) autorów. Warto podkreślić, że w siedmiu pracach (**P1, P3-P8**) Pani dr inż. Anna Maria Baturo-Cieśniewska jest pierwszym autorem i w siedmiu (**P1-P4, P6-P8**) autorem korespondencyjnym. Na podstawie załączonych 23 oświadczeń współautorów oraz deklaracji Habilitantki zawartych w Załączniku nr 3 i 4, wkład dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej w powstanie prac wchodzących w skład osiągnięcia można uznać za kluczowy i dominujący. Habilitantka w pracach tych odpowiedzialna była za opracowanie koncepcji badań i założeń metodycznych, przeprowadzanie większości analiz, w tym analiz molekularnych i bioinformatycznych oraz przygotowanie pierwotnej i ostatecznej wersji manuskryptów. Brała też udział w pozyskiwaniu materiału do badań oraz w analizie i interpretacji uzyskanych wyników.

Przedstawiony do recenzji cykl publikacji jest spójny tematycznie, a dotyczy możliwości wykorzystania narzędzi molekularnych opartych na reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. polymerase chain reaction, PCR) w diagnostyce chorób roślin, identyfikacji mikroorganizmów patogenicznych i pożytecznych dla roślin oraz analizie ich różnicowania genetycznego. Pani dr inż. Anna Maria Baturo-Cieśniewska sformułowała trzy nadrzędne i pięć szczegółowych celów badawczych, których realizacja miała doprowadzić do ocenianego osiągnięcia naukowego, a były to:

a) cele nadrzędne:

- opracowanie procedur umożliwiających wiarygodną identyfikację mikroorganizmów,
- poznanie różnicowania wybranych mikroorganizmów,
- zweryfikowanie wybranych, uwarunkowanych genetycznie cech mikroorganizmów;

b) cele szczegółowe:

- opracowanie procedury opartej na metodach molekularnych, umożliwiającej wiarygodną identyfikację gatunkową i określenie chemotypów polskich izolatów *Fusarium culmorum* (**P8**),
- weryfikacja procedur umożliwiających wiarygodną identyfikację gatunkową różniących się morfologicznie izolatów *Fusarium sambucinum*, zbadanie ich różnicowania genetycznego, ocena patogeniczności oraz wrażliwości na wybrane środki ochrony roślin (**P6**),
- identyfikacja sprawcy zgnilizny koniczyny kaukaskiej oraz opracowanie wiarygodnej metody identyfikacji molekularnej *Sclerotinia trifoliorum*, umożliwiającej jednocześnie rozróżnienie tego gatunku od *Sclerotinia sclerotiorum* (**P5** i **P7**),

- określenie możliwości identyfikacji gatunkowej grzybów mikroskopowych na podstawie sekwencji regionu ITS amplifikowanego przy użyciu starterów ITS1/ITS4 (**P1**),
- opracowanie procedur molekularnych oraz weryfikacja przydatności starterów do reakcji qPCR z SYBR Green umożliwiającą ocenę skuteczności wprowadzenia do środowiska organizmów pożytecznych (**P2, P3 i P4**).

Wśród zagadnień badawczych, które podjęła Habilitantka była molekularna identyfikacja i analiza zróżnicowania populacji 68 izolatów *F. culmorum* pozyskanych z pszenicy, jęczmienia, pszenżyta, owsa, żyta i ziemniaków (**P8**) uprawianych w różnych rejonach Polski w latach 2005-2008 oraz 28 izolatów *F. sambucinum* pozyskanych z bulw 23 odmian ziemniaka (**P6**) zebranych z różnych lokalizacji w Polsce. Pani dr inż. Anna Maria Baturó-Cieśniewska dokonała walidacji kilkunastu markerów typu PCR (SCAR, ang. Sequence Characterized Amplified Region) podawanych w literaturze jako gatunkowo-specyficzne dla wybranych gatunków *Fusarium* oraz markerów związanych z potencjałem toksynotwórczym (z grupy trichotecenów: deoksyniwalenol, 3-Ac-deoksyniwalenol, 15-Ac-deoksyniwalenol, nivalenol oraz zearalenonu) tych grzybów (**P6, P8**). Ponadto Habilitantka wykorzystała marker filogenetyczny oparty na analizie sekwencji regionu ITS rDNA (ang. Internal Transcribed Spacer ribosomal DNA) w celu potwierdzenia identyfikacji gatunkowej oraz analizie zróżnicowania genetycznego izolatów *F. sambucinum* wykazujących odmienną morfologię grzybni wzrastającej na podłożu stałym, agarowym (**P6**). Warto podkreślić, iż oprócz analiz molekularnych Pani dr inż. Anna Maria Baturó-Cieśniewska dokonała selekcji izolatów *F. sambucinum* pod względem ich patogeniczność i wrażliwość na środki ochrony roślin (**P6**).

Kolejnym aspektem badań podjętym przez Panią dr inż. Annę Marię Baturó-Cieśniewską było określenie sprawcy zgnilizny koniczyny kaukaskiej (*T. ambiguum*). Praca Habilitantki przyczyniła się do opublikowania pierwszego raportu na temat *S. trifoliorum* jako czynnika powodującego zgniliznę łądyg u koniczyny kaukaskiej (**P7**). W następstwie tych badań, Habilitantka dokonała oceny zróżnicowania genetycznego 40 izolatów *S. trifoliorum* pochodzących z koniczyny białej, czerwonej, kaukaskiej i perskiej oraz 55 izolatów *S. sclerotiorum* uzyskanych z brokułu, fasoli, kocanki piaskowej, marchwi, petunii, pietruszki, rzepaku, sałaty, selera, soi i zaślazu pospolitego, zebranych w Polsce i w Stanach Zjednoczonych (**P5 i P7**). W tym celu Habilitantka wykorzystała markery filogenetyczne oparte na analizie sekwencji ITS rDNA oraz nSSU rDNA (ang. nuclear Small Subunit ribosomal DNA), a także markery typu PCR bazujące na sekwencjach fragmentów genów kodujących β -tubulinę, kalmodulinę oraz proteazę aspartylową. Warto podkreślić, że badania te zmierzały nie tylko do określenia zróżnicowania genetycznego obu gatunków, ale również do zweryfikowania narzędzi molekularnych umożliwiających diagnostykę tych patogenów.

Weryfikacja użyteczności starterów opartych na regionach ITS rDNA w identyfikacji przedstawicieli Ascomycota (**P1**) stanowiła kolejny cel badawczy dr inż. Anny Baturó-Cieśniewskiej. Habilitantka przeanalizowała 105 izolatów grzybów pochodzących głównie z roślin, ale też z prób powietrza, pozyskanych z różnych lokalizacji w Polsce w latach 2015-2018. Izolaty te wytypowała na podstawie ich przynależności do rodzin i rodzajów Ascomycota występujących powszechnie w agroekosystemach. Dokonała oszacowania w przypadku których grzybów i na jakich ich poziomach taksonomicznych region ITS rDNA jest informatywny. Zaobserwowała, że analiza sekwencji region ITS rDNA umożliwia identyfikację takich gatunków jak: *Arthrimum arundinis*, *Aureobasidium pullulans*, *Beauveria bassiana*, *Diaporthe oncostoma*, *Epicoccum nigrum*, *Nigrospora oryzae*, *Rosellinia corticium*, *Sordaria fimicola*, *S. trifoliorum* i *S. sclerotiorum*. Badania Habilitantki potwierdziły też, że w przypadku izolatów reprezentujących rodzaj *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* czy *Trichoderma*, konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych analiz, w tym analiz markerów typu PCR lub analiz sekwencji kilku markerów filogenetycznych oraz skonfrontowanie wyników z obserwacjami morfologicznymi. Habilitantka w swojej pracy podkreśliła, że w przypadku gatunku *Botritis cinerea* przydatna jest też znajomość ich pochodzenia.

Ostatnim zadaniem badawczym Pani dr inż. Anny Baturó-Cieśniewskiej było wdrożenie techniki ilościowego PCR (qPCR) w celu określania poziomu zasiedlenia roślin i ryzosfery przez wprowadzone do ich środowiska organizmy pożyteczne. Habilitantka przeprowadziła walidację markerów, w tym ich różnych par starterów, opracowanych w celu oceny jakościowej i ilościowej gatunku *Phytium oligandrum* - lęgniowców pasożytniczych względem *S. sclerotiorum* (**P4**) oraz bakterii *Bradyrhizobium japonicum* - symbiotycznych dla soi (**P2**). Habilitantka zoptymalizowała i dostosowała metodykę na potrzeby diagnostyki chorób przechowalniczych marchwi wywołanych przez *S. sclerotiorum* oraz oceny skuteczności zabiegów agrotechnicznych: i) w formie podlewania roślin marchwi w okresie wegetacji oraz/lub w formie zamglawiania korzeni w przechowalni

biopreparatem zawierającym oospory *P. oligandrum*; ii) poprzez stosowanie szczepionek zawierających bakterie *B. japonicum*, które umożliwiają zredukowanie nawożenia azotowego w uprawach soi.

Prawidłowa identyfikacja grzybów chorobotwórczych dla roślin, poznanie ich zróżnicowania morfo-fizjologicznego, biochemicznego (jak produkcja toksyn przez izolaty *Fusarium*) i genetycznego, jest niezwykle istotnym procesem badawczym, ważnym w aspekcie opracowania właściwej diagnostyki chorób roślin i skutecznych metod zarządzania chorobami w ramach obowiązującej zintegrowanej ochrony roślin. Adaptacja i wdrożenie metod molekularnych umożliwiających ocenę skuteczności stosowania zabiegów agroekologicznych jak np. symbiotycznych mikroorganizmów wspierających wzrost i plonowanie roślin, czy tzw. czynników kontroli biologicznej - mikroorganizmów antagonistycznych względem patogenów roślin - jest kolejnym znaczącym celem badawczym w dążeniu do ograniczenia stosowania pestycydów w rolnictwie, a przez to do eliminacji stopnia zanieczyszczenia gleb, wód i powietrza substancjami chemicznymi oraz przywrócenia równowagi biologicznej wszystkich ekosystemów. Działania te wpisują się w światowe i europejskie strategie, min. strategię „Od pola do stołu” ogłoszoną w maju 2020 roku przez Komisję Europejską w ramach Europejskiego Zielonego Ładu (https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal/actions-being-taken-eu/farm-fork_pl; <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/strategia-od-pola-do-stolu>).

Podjęta przez dr inż. Annę Marię Baturo-Cieśniewską tematyka badawcza i wyznaczone przez nią cele badawcze doskonale wpisują się w powyższe wyzwania stawiane współczesnemu rolnictwu. Sformułowane przez Habilitantkę cele nadrzędne wydają się jednak zbyt ogólne. Wymagałyby one doprecyzowania np.: i) jaki rodzaj procedur będzie opracowywany?; ii) na jakim poziomie będzie analizowane zróżnicowanie mikroorganizmów?; iii) jakie mikroorganizmy będą analizowane?. Może zamiast celów nadrzędnych wystarczyłoby określenie tylko tych, które Habilitantka opisała jako szczegółowe? Warto byłoby rozważyć też przygotowanie opracowanych przez Habilitantkę procedur nie tylko w formie publikacji, ale np. zbioru protokołów.

Badania prowadzone przez Habilitantkę pozwoliły na weryfikację dostępnych markerów molekularnych umożliwiających identyfikację, w tym ilościową, zarówno ważnych gospodarczo patogenów roślin uprawnych jak i korzystnych dla roślin mikroorganizmów, a także grzybów workowych, powszechnie występujących w środowisku rolniczym. Habilitantka głównie w swoich badaniach wykorzystywała markery typu PCR oraz markery filogenetyczne oparte na analizie sekwencji nukleotydowej.

Pomimo niezwykle tempa rozwoju nowych metod molekularnych, funkcjonujące od lat 90-tych markery gatunkowo-specyficzne, oparte na reakcji PCR lub qPCR (umożliwiającej dodatkowo ocenę ilościową) są nadal niezwykle pożądanym narzędziem w diagnostyce mikroorganizmów. Ponadto, wraz ze wzrostem świadomości na temat znaczenia mikrobiomu nie tylko dla człowieka czy zwierząt, ale też dla roślin, uznaje się, iż stosowanie markerów typu PCR może dać możliwość szybkiej identyfikacji nie tylko gatunków chorobotwórczych, toksynotwórczych, ale również tych o korzystnych właściwościach dla gospodarza, z którym są zasocjowane, lub w którego środowisko zostały wprowadzone. Wciąż jednak brak skutecznych i szybkich metod możliwych do wykorzystania w praktyce. Naprzeciw tym potrzebom wyszła dr inż. Anna Maria Baturo-Cieśniewska, koncentrując swoje prace na weryfikacji lub opracowaniu specyficznych gatunkowo markerów typu PCR SCAR lub STS (ang. Sequence-Tagged Site).

Markery molekularne typu PCR mogą służyć również identyfikacji cech uwarunkowanych genetycznie, takich jak zdolność do syntezy mykotoksyn, która jest ważną cechą diagnostyczną. Szkoda, że Habilitantka weryfikując tego typu markery dla gatunków *Fusarium* (P6 i P8), nie dokonała bezpośredniej oceny zdolności badanych izolatów do produkcji mykotoksyn na podłożach laboratoryjnych lub w warunkach *in vivo* z wykorzystaniem metod spektrometrii mas i porównania uzyskanych wyników.

Natomiast markery oparte na analizie sekwencji określonego fragmentu DNA, z uwagi na wyższy koszt ich detekcji, wykorzystywane są zazwyczaj jako alternatywne narzędzie potwierdzające przynależność mikroorganizmu do danej grupy taksonomicznej. Przyporządkowanie do danego poziomu taksonomicznego zależy jednak od analizowanego fragmentu DNA, i tak, w przypadku regionu ITS rDNA - jak sama Habilitantka stwierdza - analiza jego sekwencji jest przydatna tylko dla niektórych grup taksonomicznych. Na podstawie analizy sekwencji regionu ITS rDNA lub fragmentów odpowiednich genów możliwa jest natomiast ocena zróżnicowania genetycznego,

zarówno międzygatunkowego jak i wewnątrzgatunkowego, czego przykładem są prace Habilitantki: **P5-P7**.

Ważnym aspektem badań realizowanych przez dr inż. Annę Marię Baturę-Cieśniewską, oprócz walidacji wybranych markerów molekularnych i oceny ich specyficzności, było zoptymalizowanie metodyki ich detekcji w odniesieniu do gatunku rośliny, organu rośliny, wieku rośliny i okresu przechowywania części roślin (korzeń marchwi), a także w zależności od rodzaju prób: próby środowiskowe, biopreparaty, jednozarodnikowe, czyste kultury mikroorganizmów. Prace te skupiły się w głównej mierze na dostosowaniu metodyki izolacji DNA jako czynnika determinującego poprawną identyfikację markera, co Habilitantka wskazywała i podkreślała wielokrotnie w publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia (**P1-P8**).

Prowadząc prace nad oszacowywaniem specyficzności markerów molekularnych, weryfikacją oraz optymalizacją metod ich detekcji, ważne jest też dysponowanie reprezentatywną liczebnie i zróżnicowaną grupą mikroorganizmów, w tym referencyjnymi szczepami. Sugestia ta odnosi się głównie do publikacji P1, gdzie często dany gatunek grzyba reprezentowany był przez pojedynczy izolat i nie zastosowano szczepów referencyjnych. W tego typu badaniach warto również stosować kilka alternatywnych metod, by potwierdzić przynależność gatunkową izolatów, co częściowo Habilitantka zrealizowała stosując dodatkowo analizy morfologiczne, czy analizy sekwencji kilku regionów DNA. Rozwiązaniem wątpliwości Habilitantki co do wiarygodności wybranych metod rozwiązało by natomiast przeprowadzenie kompletnych (dla całej grupy izolatów) analiz sekwencyjnych kilku markerów filogenetycznych, uznanych za referencyjne dla danego rodzaju czy gatunku, np. ITS rDNA i fragmentu genu *tef1* dla rodzaju *Trichoderma* czy *Fusarium*. Proponuje się również zwrócić uwagę na dobór starterów umożliwiających amplifikację danego regionu DNA, których sekwencje często nie są uniwersalne dla wszystkich grup taksonomicznych. Brak produktów PCR może tutaj świadczyć o niespecyficzności samych starterów użytych do reakcji, a niekoniecznie o niespecyficzności markera filogenetycznego. Te i inne, zauważone również przez dr inż. Annę Marię Baturę-Cieśniewską niuanse pozwolą na uzyskanie kompletnego obrazu specyficzności i wiarygodności narzędzi molekularnych i ich użyteczności w diagnostyce chorób roślin, czy przy identyfikacji korzystnych dla roślin mikroorganizmów.

Powyższe sugestie i uwagi nie umniejszają znaczenia uzyskanych przez dr inż. Annę Marię Baturę-Cieśniewską wyników, a jedynie mają służyć jako pomoc przy tworzeniu koncepcji podobnych badań.

Natomiast za najważniejsze i najciekawsze rezultaty badań opublikowanych w kolejnych pracach cyklu, a dotyczących wdrożenia metod molekularnych w identyfikacji mikroorganizmów związanych z roślinami uważam:

- ustalenie specyficzności starterów Fc01F/Fc01R markera SCAR w identyfikacji gatunku *F. culmorum*;
- wykazanie związku morfologicznego zróżnicowania izolatów *F. sambucinum* ze zróżnicowaniem genetycznym na poziomie sekwencji fragmentu genu *tef1* kodującego elongacyjny czynnik transkrypcyjny;
- opisanie procedur umożliwiających identyfikację *S. trifoliorum* oraz odróżnienie tego gatunku od gatunku *S. sclerotiorum* dzięki opracowaniu starterów specyficznych opartych na sekwencji fragmentu genu kodującego kalmodulinę;
- wykazanie użyteczności sekwencji regionu ITS rDNA w identyfikacji *S. trifoliorum* i *S. sclerotiorum*;
- opisanie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (ang. Single Nucleotide Polymorphism, SNP) w sekwencji regionu ITS rDNA determinującego różnicę pomiędzy izolatami z gatunku *S. trifoliorum* a *S. sclerotiorum*;
- zoptymalizowanie procedur izolacji DNA i jego przygotowania do analiz mających na celu określenie stopnia zasiedlenia prób środowiskowych przez mikroorganizmy;
- zaadoptowanie markerów i optymalizacja procedur do oceny jakościowej i ilościowej metodą qPCR z wykorzystaniem barwinka SYBR Green symbiotycznych bakterii z gatunku *B. japonicum* oraz antagonistycznych względem *S. sclerotiorum* lęgniowców z gatunku *P. oligandrum* zasiedlających tkanki roślin.

Za najważniejsze i najciekawsze rezultaty badań opublikowanych w kolejnych pracach cyklu, a dotyczących charakterystyki stopnia patogeniczności, potencjału toksynotwórczego oraz wrażliwości izolatów grzybów chorobotwórczych na środki ochrony roślin uważam:

- zidentyfikowanie *S. trifoliorum* jako sprawcy zgnilizny koniczyny kaukaskiej w Polsce;

- zidentyfikowanie na podstawie markerów molekularnych chemotypu DON, jako wyraźnie dominującego wśród izolatów *F. culmorum* infekujących zboża w Polsce;
- ujawnienie na podstawie analizy markerów PCR istnienia potencjalnego zagrożenia zanieczyszczenia bulw ziemniaka niwalenolem w przypadku ich infekcji *F. culmorum*;
- wykazanie wrażliwości izolatów *F. sambucinum* na biopreparat zawierający ekstrakt z grejpfruta i ujawnienie potencjału tej substancji do wykorzystania w ograniczaniu zgnilizny bulw.

Podsumowując, stwierdzam, iż złożony do recenzji cykl publikacji, stanowiący osiągnięcie naukowe w rozumieniu art. 219 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, wzbogaca wiedzę na temat występowania gatunków grzybów patogenicznych na uprawach w Polsce, ich zróżnicowania genetycznego, stopnia infekcyjności i potencjału do produkcji mykotoksyn. Na szczególną uwagę zasługuje fakt opracowania podejścia i zoptymalizowania metod wiarygodnej identyfikacji wybranych grup mikroorganizmów zasocjowanych z roślinami i środowiskiem agroekologicznym, zarówno tych patogenicznych względem roślin jak i dla nich korzystnych. Warte uznania jest zidentyfikowanie po raz pierwszy w Polsce sprawcy zgnilizny koniczyny kaukaskiej - *S. trifoliorum* - uznawanej dotychczas za roślinę odporną oraz wykrycie zróżnicowania gatunkowego na poziomie DNA pomiędzy *S. trifoliorum* a *S. sclerotiorum*. Z uwagi na duże znaczenie gospodarcze chorób roślin uprawnych wywoływanych przez grzyby patogeniczne, w tym toksynotwórcze, oraz ciągłe poszukiwanie nowych, ekologicznych rozwiązań służących zapobieganiu tym chorobom i ograniczaniu występowania gatunków patogenicznych, można uznać, iż otrzymane wyniki będą kluczowe dla współczesnego rolnictwa i dostarczą wskazówek przy opracowywaniu nowoczesnych metod zarządzania chorobami wielu gatunków roślin uprawnych. Z pełnym przekonaniem konstatuje, że uzyskane rezultaty stanowią znaczny wkład w wiedzę na temat metod i podejść umożliwiających wiarygodną identyfikację mikroorganizmów patogenicznych i pożytecznych dla roślin uprawnych, a przez to też w rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo.

OCENA AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ORAZ WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

Aktywność naukową Pani dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej oceniam bardzo dobrze. Pani dr inż. Anna Maria Baturo-Cieśniewska jest bowiem autorem lub współautorem łącznie 54 (49 poza osiągnięciem, Załącznik nr 6) oryginalnych publikacji w recenzowanych czasopismach naukowych, w tym: 22 anglojęzycznych prac z listy JCR oraz 27 prac w czasopismach spoza JCR (16 w języku angielskim oraz 11 w języku polskim), oraz 4 rozdziałów w monografiach. W przypadku 27 prac jest pierwszym autorem, a w 26 autorem korespondencyjnym. W Jej dorobku znajdują się także 4 anglojęzyczne prace pokonferencyjne. Sumaryczny współczynnik wpływu (IF) według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi 39,545 (poza osiągnięciem 26,33), a liczba punktów MNiSW – 1016,5 (poza osiągnięciem 736,5). Liczba cytowań według bazy Web of Science (WoS) wynosi 157, a indeks Hirscha 7.

Powyżej wspomniane publikacje, nie wchodzące w skład osiągnięcia, są efektem badań koncentrujących się wokół takich zagadnień jak: i) zdrowotność jęczmienia jarego w różnych systemach uprawy ze szczególnym uwzględnieniem systemu ekologicznego; ii) badania zróżnicowania genetycznego grzybów metodą RAPD-PCR; iii) identyfikacja innych niż *F. culmorum* i *F. sambucinum* gatunków z tego rodzaju zasiedlających tkanki zbóż; iv) ocena wpływu różnych preparatów aktywnych biologicznie, w tym takich, które są stosowane w uprawie pszenicy na wybrane gatunki *Fusarium*, ich poziom toksynotwórczości, a także na zdrowotność pszenicy i jej parametry plonotwórcze. Ponadto, Habilitantka w ramach współpracy z innymi ośrodkami naukowymi rozwijała swoje zainteresowania związane z możliwością wykorzystania markerów opartych na sekwencji ITS rDNA jako narzędzia do identyfikacji grzybów zasocjowanych z roślinami. W tym miejscu warto podkreślić, że Pani dr inż. Anna Baturo-Cieśniewska współpracowała zarówno z licznymi krajowymi jak i zagranicznymi ośrodkami naukowymi. Współpraca ta realizowana była zarówno w ramach projektów jak i staży, w tym 6-miesięcznego stażu typu "post doc" w ramach projektu 'Identification of genetic variability in *Bipolaris sorokiniana* isolates from wheat (PCR)' w Laboratório Patologia de Sementes, Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR, Londrina, PR, Brazylia w okresie od 8 maja do 5 listopada 2003 roku oraz 3-miesięcznego stażu naukowego w ramach projektu 'Molecular differences between Polish and American *Sclerotinia trifoliorum* isolates, pathogenicity to Kura

clover and screening of resistant plants' na University of Wisconsin-Madison, USA, Department of Plant Pathology w okresie od 3 grudnia 2014 do 4 marca 2015 roku. Habilitantka była zarówno wykonawcą w wielu projektach badawczych, jak też i kierownikiem dwóch projektów: MNiI KBN, o numerze 2 P06 R 099 27, realizowanego w latach 2004–2007 i MNiSW, o numerze N N310 083236, realizowanego w latach 2009–2012. Niestety Pani dr inż. Anna Maria Baturo-Cieśniewska od roku 2012 nie kierowała już żadnym projektem badawczym uzyskanym w ramach postępowań konkursowych.

Efektom badań własnych Habilitantki jak i tych realizowanych w ramach współpracy są nie tylko publikacje wymienione powyżej, ale również doniesienia konferencyjne. Łącznie wyniki jej badań zostały przedstawione na konferencjach w formie **38** referatów, z których osobiście wygłosiła **16**, w tym **6** w języku angielskim oraz **54** posterów. Habilitantka wygłosiła też **6** referatów na zaproszenie zewnętrznych jednostek naukowych. Habilitantka osobiście uczestniczyła w **61** konferencjach, w tym **26** międzynarodowych, z których **6** odbyło się zagranicą. Była też współorganizatorem **10** z nich. Ponadto Habilitantka wykonała **24** recenzje prac naukowych, w tym **15** dla czasopism znajdujących się w bazie JCR, co może wskazywać na rozpoznawalność jej dorobku w świecie naukowym. Wymiernym efektem pracy badawczej dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej jest również zdeponowanie **12 izolatów grzybów** z rodzaju *Sclerotinia* w międzynarodowej kolekcji kultur CBS-KNAW (<https://wi.knaw.nl/page/Collection>) w Holandii oraz 442 sekwencji nukleotydowych różnych regionów DNA grzybów w GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Na uwagę zasługuje również fakt, że Pani dr inż. Anna Maria Baturo-Cieśniewska po uzyskaniu stopnia doktora otrzymała w 2003 roku stypendium Fundação Araucária (Brazylia) w ramach programu na 2003 rok 'Programa de Apoio à Cooperação Científica Internacional' mający na celu wspieranie wymiany naukowej, technicznej i kulturalnej między badaczami z instytucji dydaktycznych i badawczych z siedzibą w stanie Parana oraz w Polsce i na Ukrainie, w 2004 roku stypendium konferencyjne Fundacji Nauki Polskiej (FNP) na uczestnictwo w First World Conference on Organic Seed, Challenges and Opportunities for Organic Agriculture and the Seed Industry, FAO, Rzym, Włochy, a w 2014 roku stypendium naukowe OECD w ramach programu "Co-operative Research Programme: Biological Resource Management for Sustainable Agricultural Systems".

Dopełnieniem powyżej wskazanego dorobku i aktywności naukowej Pani dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej są efekty jej bardzo aktywnej działalności dydaktycznej i popularyzatorskiej. Habilitantka była promotorem 21 prac magisterskich na kierunku *biotechnologia*, 11 prac inżynierskich na kierunku *biotechnologia* i 2 na kierunku *technologia żywności i żywienia człowieka* na Wydziale Rolnictwa i Biotechnologii UTP w Bydgoszczy. Prowadziła wykłady i ćwiczenia laboratoryjne dla studentów pierwszego i drugiego stopnia Wydziału Rolnictwa i Biotechnologii, Wydziału Technologii i Inżynierii Chemicznej UTP oraz Wydziału Budownictwa, Architektury i Inżynierii Środowiska, na kierunkach: *biotechnologia*, *rolnictwo*, *nanobiotechnologia*, *zielnictwo i fitoterapia*, *technologia żywności i żywienia człowieka*, *ochrona środowiska*, *inżynieria środowiska* oraz *inżynieria farmaceutyczna* z 16 różnych przedmiotów. Habilitantka prowadziła również wykłady i ćwiczenia laboratoryjne w języku angielskim ze studentami programu Erasmus + z przedmiotu *Applied Mycology*. Ponadto współorganizowała i prowadziła w latach 2014-2016 wiosenne szkoły (Spring School) dla grupy amerykańskich, lwowskich i polskich studentów kierunków rolniczych. Podjęła się również opieki naukowej nad krótko- i długoterminowymi stażami studentów z Polski i w ramach programu Erasmus +. Ponadto Habilitantka angażowała się w wiele innych formy działalności na rzecz popularyzacji nauki typu: festiwale, spotkania, wykłady.

Pani dr inż. Anna Maria Baturo-Cieśniewska już od 1997 jest Członkiem Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego, w tym Członkiem komisji rewizyjnej, a od 2010 roku jest Członkiem Polskiego Towarzystwa Agrofizycznego, w którym pełni funkcję sekretarza.

Biorąc pod uwagę współpracę Pani dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej z otoczeniem społecznym i gospodarczym, Habilitantka w lutym 2021 roku prowadziła szkolenie dla pracowników Firmy Agro-Sieć z zakresu Fitopatologii pt. 'Mikroorganizmy zasiedlające rośliny uprawne i zanieczyszczające żywność'. Ponadto w roku 2016 i 2021 realizowała cykl analiz dotyczących obecności *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas* spp., *Xanthomonas campestris*, *Rhodococcus fascians*, *Pseudomonas* spp. i *Thielaviopsis basicola* na roślinach ozdobnych wykonanych z wykorzystaniem analiz molekularnych na zlecenie firmy VITROFLORA Grupa Producentów Sp. z o.o., a w 2018 przeprowadziła analizy mykologiczne więźby dachowej w budynku Wojewódzkiego Sądu Administracyjnego w Bydgoszczy – ekspertyza na zlecenie firmy GOBEN POL (BZ-

020/2018/WRiB). Należy również z uznaniem podkreślić, że na zlecenie firmy DAUKUS sp. z o.o.: (BZ-128/2014/WRiB) w latach 2014-2015 opracowała technologię traktowania marchwi biopreparatem zawierającym oospory *P. oligandrum* w celu ograniczenia strat powodowanych przez grzyby rozwijające się podczas przechowywania. Pragnę podkreślić, iż zaangażowanie Habilitantki we współpracę z środowiskiem przemysłu rolniczego i rolnikami świadczy o uznawaniu Habilitantki jako eksperta w dziedzinie.


W związku z powyższym bardzo pozytywnie oceniam aktywność naukową Pani dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej. Habilitantka wniosła istotny wkład jako autor lub współautor w powstanie wielu ważnych publikacji o wartościowych dla dziedziny nauk rolniczych wynikach. Wysoko oceniam współpracę naukową, w tym międzynarodową Habilitantki, Jej osiągnięcia organizacyjno-dydaktyczne i działalność popularyzującą naukę. Dobrze oceniam też współpracę Habilitantki z otoczeniem społecznym i gospodarczym.

PODSUMOWANIE I WNIOSEK KOŃCOWY

W mojej ocenie, zarówno osiągnięcie naukowe Pani dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej zatytułowane: „Wykorzystanie metod molekularnych opartych na technice PCR w identyfikacji oraz badaniach zróżnicowania genetycznego mikroorganizmów patogenicznych i niepatogenicznych dla roślin”, jaki i zgromadzony (po uzyskaniu stopnia naukowego doktora) przez nią dorobek publikacyjny, stanowią **istotny wkład w rozwój wiedzy na temat użyteczności i możliwości stosowania technik molekularnych w badaniu zróżnicowania genetycznego i identyfikacji mikroorganizmów związanych z roślinami i środowiskiem agroekologicznym, w tym mikroorganizmów pożytecznych i chorobotwórczych, a przez to też znaczny wkład w rozwój dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo.** Ponadto, **ww. osiągnięcie naukowe Pani dr inż. Anny Marii Baturo-Cieśniewskiej oraz jej pozostała aktywność naukowa ukierunkowana na praktykę ma istotne znaczenie dla współczesnego rolnictwa, przed którym stoją wyzwania związane z wdrażaniem nowych, ekologicznych metod ochrony roślin, obejmujących zarówno szybką diagnostykę chorób roślin uprawnych, jak i efektywne im przeciwdziałanie poprzez wprowadzanie symbiotycznych i pożytecznych mikroorganizmów oraz bezpiecznych dla środowiska biopreparatów.** Natomiast **analiza pozostałej aktywności naukowej, dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej pozwala stwierdzić, że Habilitantka jest już bardzo dojrzałym i samodzielnym naukowcem i ekspertem w swojej dziedzinie.**

W świetle powyższych wniosków, zgodnie z właściwymi przepisami, określonymi w art. 219 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.), stwierdzam, że przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe w pełni uprawnia Panią dr inż. Annę Marię Baturo-Cieśniewską do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Poznań, dnia 2 lutego 2022 r.



dr hab. Lidia Błaszczyk