

Olsztyn 15.01.2021 r

Dr hab. inż. Iwona Gołaś, prof. UWM
Katedra Inżynierii Ochrony Wód i Mikrobiologii Środowiskowej
Wydział Geoinżynierii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
ul. Prawocheńskiego 1
10-720 Olsztyn

RECENZJA

**osiągnięcia naukowego pt. „Zbiorowiska bakteryjne i archeonowe ekstremalnych środowisk
o różnym stopniu zasolenia”
oraz dorobku naukowego, działalności dydaktycznej i organizacyjnej
dr Agnieszki Kalwasińskiej
w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne**

Podstawą wykonania Recenzji jest pismo Przewodniczącego Rady Naukowej w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (26-DWNBiW.5211.1.2020) z dnia 1 grudnia 2020 r. z informacją o powołaniu mnie przez Radę Naukową (uchwała nr 68/2020 z dnia 27 listopada 2020 r.) na recenzenta komisji w postępowaniu habilitacyjnym dr Agnieszki Kalwasińskiej.

Recenzję zawierającą ocenę osiągnięcia naukowego oraz istotnej działalności naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej dr Agnieszki Kalwasińskiej wykonałam na podstawie dokumentacji sporządzonej zgodnie z wytycznymi podanymi przez Radę Doskonałości Naukowej (<https://www.rdn.gov.pl/postepowanie-habilitacyjne.wymagania-dokumentacyjne-wnioskow-w-sprawie-nadania-stopnia-doktora-habilitowanego.html>) na podstawie kompetencji wyrażonej w art. 221 ust. 1 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.). Zawierała ona:

- wniosek dr Agnieszki Kalwasińskiej z dnia 14.05.2020 r. o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne;
- dane Habilitantki (załącznik nr 1);
- kopię Dyplomu Habilitantki, potwierdzającą posiadanie stopnia doktora (załącznik nr 2);

- autoreferat prezentujący: przebieg kariery zawodowej dr Agnieszki Kalwasińskiej, osiągnięcia naukowe, dydaktyczne, organizacyjne i popularyzatorskie (załącznik nr 3);
- wykaz osiągnięć naukowych, stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne (załącznik nr 4);
- kopie publikacji stanowiących osiągnięcia naukowe Habilitantki zatytułowane „Zbiorowiska bakteryjne i archeonowe ekstremalnych środowisk o różnym stopniu zasolenia” wraz w oświadczeniami współautorów prac zbiorowych, wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji, określające ich indywidualny wkład w powstanie poszczególnych artykułów;
- wykaz publikacji wraz z kopiami ważniejszych artykułów naukowych z dorobku naukowego Wnioskodawcy;
- dokumentację w języku angielskim zawierającą: wniosek dr Agnieszki Kalwasińskiej, dane osobowe, autoreferat przedstawiający osiągnięcia naukowe, dydaktyczne, organizacyjne i popularyzatorskie Habilitantki.

Przedłożona mi do oceny dokumentacja osiągnięcia naukowego i całokształtu aktywności naukowej jest kompletna i zawiera wszystkie informacje niezbędne do sporządzenia oceny zgodnie z kryteriami Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. z późniejszymi zmianami (Dz. U. 2018, poz. 1668, Dz. U. 2020, poz. 85, 374, dalej: Ustawa).

Podstawowe informacje o Habilitantce

Pani dr Agnieszka Kalwasińska po obronie pracy pt. „Bakterie epifityczne grążela żółtego *Nuphar lutea* L” uzyskała tytułu magistra biologii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu 1 lipca 2000 r. Po ukończeniu studiów pracowała jako nauczyciel biologii w Gimnazjum nr 35 w Bydgoszczy w okresie od 1.09 2000 r. do 12.02.2001 r. Swoją karierę naukowo-dydaktyczną Habilitantka rozpoczęła 05.03.2001 r. obejmując stanowisko asystenta w Zakładzie Mikrobiologii Wód i Ścieków (późniejszy Zakład Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii) na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu. W 2008 r. po obronie pracy pt. „Studium mikrobiologiczne Jeziora Chełmżyńskiego” wykonanej w Zakładzie Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii (obecnie Katedra Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii) pod kierunkiem prof. dr hab. Wojciecha Donderskiego Kandydatka uzyskała tytuł doktora nauk biologicznych w zakresie biologii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Recenzentami w przewodzie doktorskim Habilitantki byli: prof. dr hab. Zbigniew Mudryk i prof. dr hab. Aleksander Świątecki. Pani dr Agnieszka Kalwasińska od 01.10.2010 r. do chwili obecnej pracuje na stanowisku adiunkta w Katedrze Mikrobiologii

Środowiskowej i Biotechnologii na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu. W okresie od 01.10.2015 r. do 31.03.2016 r. Kandydatka przebywała na urlopie bezpłatnym w związku z zagranicznym stażem podoktorskim, który odbyła jako stypendystka The Visby Programme 2015/2016 w Department Microbiology Swedish University of Agricultural Sciences, w Uppsali (Szwecja).

Ocena osiągnięcia naukowego, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018, poz. 1668)

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe „Zbiorowiska bakteryjne i archeonowe ekstremalnych środowisk o różnym stopniu zasolenia” stanowi cykl sześciu jednotematycznych współautorskich prac oryginalnych, w których dr Agnieszka Kalwasińska jest pierwszym i korespondencyjnym autorem. Wszystkie prace stanowiące osiągnięcie naukowe mają charakter eksperymentalny i opublikowane zostały w latach 2015 - 2020 w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR): *Polish Journal of Microbiology*, *Antonie Van Leeuwenhoek*, *Food Technology and Biotechnology*, *Science of the Total Environment*, *Geomicrobiology Journal* i *Applied and Environmental Microbiology*. Wskaźnik oddziaływania tych czasopism (IF), zgodnie z rokiem ukazania się publikacji, wynosi od 0,750 do 5,589 a ich sumaryczny IF to 15,13. Według wykazu czasopism naukowych MNiSW całkowita wartość przedstawionych prac (w oparciu o rok publikacji) wynosi 400 punktów. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego były cytowane (według baz Web of Science) zgodnie z wnioskiem: 13-krotnie i dotyczą głównie dwóch prac, które ukazały się w latach 2015 - 2017. Cztery pozostałe spośród sześciu publikacji, wchodzących w skład dzieła naukowego to pozycje, które ukazały się niedawno (w latach 2018 - 2020). Biorąc pod uwagę progresywny trend w cytowalności tych prac (na dzień 15.01.2021 r. - 24 razy) widoczny jest wzrost ich pozycji na arenie międzynarodowej, świadczący o wysokim i wartościowym poziomie naukowym artykułów, stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitantki. W przedłożonej do oceny dokumentacji brak jest niestety informacji dotyczącej procentowego wkładu Kandydatki w powstanie poszczególnych publikacji współautorskich. Jednakże pozycja pierwszego i korespondencyjnego autora wszystkich prac oraz opis wielu zadań, które wykonywała Pani dr Agnieszka Kalwasińska wskazują na Jej kluczową rolę w procesie ich powstawania począwszy od koncepcji badań, poprzez analizy laboratoryjne i opracowanie wyników, do aktywnego udziału w procesach publikacyjnych. Dołączone oświadczenia współautorów potwierdzają wiodącą rolę Habilitantki w wyborze zagadnienia badawczego, planowaniu i wykonaniu doświadczeń laboratoryjnych, opracowaniu wyników badań (w tym

wszystkich analiz statystycznych), przygotowaniu maszynopisów oraz aktywny udział w kolejnych etapach ich publikacji w czasopismach naukowych. Należy podkreślić, że wszystkie prace stanowiące osiągnięcie naukowe są efektem współpracy Kandydatki z badaczami reprezentującymi różne ośrodki naukowe tj. Uniwersytet Loránda Eötvösa w Budapeszcie, Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie oraz Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy.

Do prac dokumentujących osiągnięcie naukowe zatytułowane „Zbiorowiska bakteryjne i archeonowe ekstremalnych środowisk o różnym stopniu zasolenia” należą:

1. Kalwasińska A., Felföldi, T., Walczak, M., Kosobucki, P. 2015. Physiology and molecular phylogeny of bacteria isolated from alkaline distillery lime. *Polish Journal of Microbiology*, 64(4): 369-377 (IF2015=0,750; MNiSW=15 pkt.);
2. Kalwasińska A., Felföldi T., Szabó A., Deja Sikora E., Kosobucki P., Walczak M. 2017. Microbial communities associated with the anthropogenic, highly alkaline environment of a saline soda lime, Poland. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(7): 945-962 (IF2017=1,588; MNiSW=20 pkt.);
3. Kalwasińska A., Jankiewicz U., Felföldi T., Burkowska But A., Swiontek Brzezinska M. 2018. Alkaline and halophilic protease production by *Bacillus luteus* H11 and its potential industrial applications. *Food Technology and Biotechnology*, 56(4): 553-561 (IF2018=1,517; MNiSW=25 pkt.);
4. Kalwasińska A., Deja Sikora E., Szabó A., Felföldi T., Kosobucki P., Swiontek Brzezinska M., Walczak M. 2019a. Salino alkaline lime of anthropogenic origin a reservoir of diverse microbial communities. *Science of the Total Environment*, 655: 842-854 (IF2019=5,589; MNiSW=200 pkt.);
5. Kalwasińska A., Deja Sikora E., Szabó A., Krawiec A., Felföldi T., Swiontek Brzezinska M., Walczak M. 2019b. Microbial communities of low temperature, saline groundwater used for therapeutical purposes in North Poland. *Geomicrobiology Journal*, 36(3): 212-223 (IF2019=1,609; MNiSW=40 pkt.);
6. Kalwasińska A., Krawiec A., Deja Sikora A., Gołębiewski M., Kosobucki P., Swiontek Brzezinska M., Walczak M. 2020. Microbial diversity in deep subsurface hot brines of the North West Poland: from a community structure to isolate characteristics. *Applied and Environmental Microbiology*, 86:e00252-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.00252-20>. (IF2019=4,077; MNiSW=100 pkt.).

W mojej opinii, przedstawiony przez dr Agnieszkę Kalwasińską tytuł zbiorczy wybrany dla przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego jest adekwatny do treści wybranych prac. Zwarte

tematycznie publikacje miały na celu analizę zmian składu ilościowego i jakościowego (w tym: bioróżnorodności i struktury) zbiorowisk bakteryjnych i archeonowych pod wpływem czynników fizyko-chemicznych w unikalnych, ekstremalnych środowiskach sztucznych i naturalnych o różnym stopniu zasolenia a także rozpoznanie fizjologii dominujących izolatów pod względem możliwości wykorzystania tych szczepów w różnych gałęziach przemysłu i ochronie środowiska.

Pierwsze cztery prace (Kalwasińska i wsp., 2015; 2017; 2018 i 2019a), wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, dotyczą wielokierunkowych badań zbiorowisk mikroorganizmów w wapnie posodowym (uboczny produkt wytwarzania sody), stanowiącego przykład sztucznego środowiska ekstremalnego, wynikającego z działalności antropogenicznej. W powyższych artykułach badaniom mikrobiologicznym poddawano różnorodne pod względem wieku i właściwości fizyko-chemicznych próbki wapna o zróżnicowanych poziomach zasolenia (około 2%, 14% i 26% NaCl).

Zakres badań wstępnych, przedstawionych w pierwszej pracy opublikowanej w *Polish Journal of Microbiology*, obejmował analizę składu ilościowego i taksonomicznego mikrobioty bakteryjnej wapna alkalicznego oraz określenie właściwości biochemicznych wyizolowanych szczepów bakterii. Przeprowadzone oznaczenia wykazały, że liczebności mikroorganizmów w wapnie posodowym wahały się od 10^5 do 10^7 kom./g suchej masy a wyizolowane szczepy były zróżnicowane pod względem taksonomicznym, fizjologicznym i biochemicznym. Spośród uzyskanych izolatów dominowały szczepy należące do rodzajów *Bacillus* i *Halomonas*, podczas gdy tylko niewielki udział stanowiły szczepy reprezentujące rodzaje *Planococcus* i *Microcella*. Wśród zidentyfikowanych bakterii znakomita większość należała do fakultatywnych alkalifili i umiarkowanych halofili. Jako szczególnie istotne osiągnięcie o charakterze użytkowym było wykazanie aktywności enzymów amylolitycznych, lipolitycznych i proteolitycznych w tym: esterazy (C4), esterazy lipazy (C8), α -glukozydazy i fosfohydrolazy naftol-AS-BI u większości izolatów pozyskanych z wapna alkalicznego. Wskazuje to na możliwość wykorzystania bakterii alkalifilnych, aktywnych w warunkach wysokiego odczynu (pH 10) i zasolenia (3% NaCl), jako źródeł potencjalnie użytecznych ekstremoenzymów w różnych gałęziach przemysłu, medycynie i ochronie środowiska.

W drugiej pracy (Kalwasińska i wsp., 2017), wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego i opublikowanej w czasopiśmie *Antonie Van Leeuwenhoek*, Kandydatka przeanalizowała zróżnicowanie bioróżnorodności i składu zbiorowisk bakteryjnych zasiedlających dwa ekstremalne środowiska: sztuczne (wapno posodowe) i naturalne (10-letnie solankowe pokłady wapnia). Zastosowanie nowoczesnych technik wysokoprzepustowego sekwencjonowania ampikonów 16S rDNA wykazało zaskakującą różnorodność zbiorowisk bakteryjnych w wapnie posodowym. W tym ekstremalnym środowisku sztucznym oznaczono sekwencje należące do mikroorganizmów reprezentujących wszystkie trzy domeny życia (*Bacteria*, *Archaea*, *Eukarya*), a wśród nich

sekwencje ("Candidatus Halobonum", *Halorubrum*, *Salinibacter*, *Halomonas*, *Dunaliella*, *Euhalothece*, *Synechococcus*) swoiste dla skrajnie słonych ekosystemów takich jak np. Morze Martwe. Jako szczególnie cenne z ekologicznego punktu widzenia uważam, wykazanie, że zmiany wilgotności, pH, zasolenia i temperatury determinują bioróżnorodność taksonomiczną mikrobioty bakteryjnej powodując większe zróżnicowanie zbiorowisk bakterii pod względem składu rodzajowego w środowisku sztucznym (wapno posodowe) w porównaniu do środowiska naturalnego (10-letnie solankowe pokłady wapnia), w którym warunki są bardziej stabilne. Uzyskane wyniki badań są istotne nie tylko z poznawczego (naukowego) punktu widzenia ale również z faktu, że stały się one inspiracją Habilitantki do rozwoju potencjału naukowego i doskonalenia warsztatu badawczego, poprzez zainteresowanie się szczegółowymi badaniami molekularnymi dotyczącymi bioróżnorodności sekwencji bakteryjnych i archeonowych.

Kolejna publikacja (Kalwasińska i wsp., 2018) jest efektem zaangażowania Kandydatki w głębszą analizę wysokiej aktywności proteolitycznej szczepu bakterii *Bacillus luteus* H11, wyizolowanego ze zbiornika wapna posodowego w trakcie badań wstępnych opisanych w pracy (Kalwasińska i wsp., 2015). W wyniku przeprowadzonych oznaczeń stwierdzono, że produkowany przez izolat *Bacillus luteus* H11 enzym z grupy endoproteaz serynowych wykazywał wyjątkową stabilność w warunkach wysokiego odczynu (do pH 12), stężenia soli (do 5M NaCl) i temperatury (45°C). Istotnym osiągnięciem tych badań było określenie odporności halo-alkalicznej proteazy na działanie: niejonowych środków powierzchniowo czynnych (takich jak: SDS, Triton X-100, Tween 80, CTAB), detergentów, utleniaczy (H₂O₂), niektórych rozpuszczalników organicznych (w tym etanolu, acetonu, butanolu, metanolu) i jonów metali (np. Ba²⁺, Co²⁺, Cd²⁺, Fe²⁺). Uzyskane rezultaty badań dotyczących właściwości enzymu odpowiedzialnego za aktywność proteolityczną *Bacillus luteus* H11 uważam za szczególnie cenne, aktualne a nawet pożądane z punktu widzenia możliwości praktycznego ich zastosowania w wielu gałęziach gospodarki (np. w przemyśle chemicznym, spożywczym, farmaceutycznym lub procesach bioremediacji ekosystemów słonych).

Czwarta publikacja (Kalwasińska i wsp., 2019a), wchodząca w skład osiągnięcia naukowego i opublikowana w *Science of the Total Environment* stanowi szczegółową i dogłębną analizę zróżnicowania struktur bakteryjnych i archeonów w alkalicznym wapnie posodowym zróżnicowym pod względem zasolenia (od 2,3 do 25,5%), głębokości zalegania (od 0 m do 2m p. p. t.) i czasu depozycji (od kilka miesięcy do kilku lat). W pobranych próbkach oznaczano parametry chemiczne (pH, przewodnictwo, stężenie jonów chlorkowych, sodu i wapnia, całkowity węgiel organiczny, azot całkowity, azot organiczny, azot amonowy, fosfor całkowity oraz stężenie NaCl), ogólną liczbę bakterii (metodą mikroskopową), przynależność taksonomiczną bakterii i archeonów (metodą sekwencjonowania nowej generacji - Next Generation Sequencing). Natomiast do szacowania

bióżnorodności zbiorowisk bakteryjnych i archeonów wykorzystano wskaźnik różnorodności Shannona. Uzyskane wyniki badań wykazały, że zróżnicowanie zbiorowisk bakteryjnych było większe pod względem liczby rodzajów mikroorganizmów i wskaźnika różnorodności Shannona (odpowiednio: 36 typów wśród domeny *Bacteria*; Sobs = 116 - 585, $H' = 2,6 - 5,4$) w stosunku do zbiorowisk archeonowych (odpowiednio: 8 typów wśród domeny *Archaea*; Sobs = 7 - 90, $H' = 1,7 - 3,7$). Wśród zbiorowisk bakteryjnych zaobserwowano dominację sekwencji bakteryjnych należących do *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* i *Actinobacteria* zbliżoną do struktury zbiorowisk bakteryjnych zasiedlających naturalne haloalkaliczne środowiska wodne. Natomiast zbiorowiska archeonów charakteryzowały się przewagą przedstawicieli klasy *Halobacteria* wykazując podobieństwo pod względem struktury do zbiorowisk archeonów w ekstremalnie słonych i alkalicznych glebach oraz silnie zasolonych jeziorach. Istotnym osiągnięciem pracy było ustalenie ilościowych proporcji pomiędzy archeonami a bakteriami, które wynosiły średnio około 0,5% w przypadku wapna o niskim i umiarkowanym poziomie zasolenia (odpowiednio: 2 i 14% NaCl), podczas gdy w przypadku wapna o najwyższym poziomie zasolenia (26% NaCl) około 1%. Szczegółowa analiza składu zbiorowisk bakteryjnych i archeonowych wykazała także zróżnicowanie na poziomie rodzaju w zależności od poziomu zasolenia wapna. Wapno o najniższym stężeniu soli (2%) charakteryzowało się dominacją sekwencji z rodzajów: *Marinobacter*, *Idiomarina* i *Pseudomonas*, natomiast w wapnie o największym stopniu zasolenia notowano wysoki udział sekwencji z rodzajów *Fodinibius* i *Halomonas*. Wyniki przeprowadzonych analiz statystycznych dostarczyły również cennych informacji dotyczących zależności pomiędzy parametrami chemicznymi środowiska a mikroorganizmami je zasiedlającymi. W przypadku zbiorowisk bakteryjnych stężenie soli i uwodnienie osadów negatywnie korelowały z obserwowaną liczbą gatunków, wskaźnikiem różnorodności i równocенności. Z kolei istotną dodatnią korelację stwierdzono pomiędzy stężeniem jonów wapnia, a liczbą rodzajów bakteryjnych. Natomiast w zbiorowiskach archeonowych obserwowano istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem soli i liczbą rodzajów z domeny *Archaea*, podczas gdy w przypadku stopnia uwodnienia i stężenia biogenów istotne zależności były negatywne.

Kolejne dwie publikacje (Kalwasińska i wsp., 2019b; Kalwasińska i wsp. 2020), zaliczone przez Habilitantkę do osiągnięcia naukowego, dotyczą badań liczebności, określenia struktury i bióżnorodności zespołów mikroorganizmów w naturalnych solankach terapeutycznych zróżnicowanych pod względem mineralizacji ogólnej (TDS = 6 - 14%), temperatury (<12 - 95°C) i głębokości zalegania warstw wodonośnych. W pracy (Kalwasińska i wsp., 2019b) opublikowanej w *Geomicrobiology Journal* Kandydatka przedstawiła wyniki badań zróżnicowania ilościowego i jakościowego mikrobioty chłodnych ($T < 12^{\circ}\text{C}$) wód solankowych w Kołobrzegu i Połczynie

Zdroju. Natomiast w ostatniej publikacji (Kalwasińska i wsp. 2020), która ukazała się w *Applied and Environmental Microbiology*, badaniami mikrobiologicznymi objęto wysoko zmineralizowane (TDS = 12 - 14%) solanki termalne (T = 67°C i 95°C), ujmowane z głębokości około 1,6 i 2,6 km p.p.t., zlokalizowane na terenie Pyrzyca i Stargardu Szczecińskiego. Uzyskane wyniki badań wskazały, że skład ilościowy mikrobioty bakteryjnej solanek chłodnych i termalnych jest zbliżony do ich populacji w wodach podziemnych. Habilitantka udowodniła także, że w próbkach solanek zróżnicowanych pod względem termicznym zbiorowiska bakteryjne zasiedlające badane ekosystemy wykazywały niską bioróżnorodność (liczby OTU pozyskane z solanek chłodnych i termicznych wynosiły odpowiednio: 19 - 31 i 10 - 27 a indeksy bioróżnorodności Shanona w solankach chłodnych i termicznych odpowiednio: 1,12 - 2,85 i 1,53 - 2,50). Z kolei sporadyczne występowanie sekwencji archeonowych zarówno w chłodnych wodach solankowych (liczba OTU = 1 zaklasyfikowane do *Methanobacterium*) jak i w solankach termalnych (liczba OTU = 1 należące do rzędu *Thermoplasmatales* w obrębie typu *Thermoplasmata*) potwierdziły sformułowaną we wcześniejszych badaniach hipotezę dr Agnieszki Kalwasińskiej o niewielkim udziale przedstawicieli domeny *Archaea* w strukturze zbiorowisk mikroorganizmów wód podziemnych. Istotnym osiągnięciem tych badań było wykazanie, że ściśle określone i bardzo specyficzne dla danego stanowiska parametry fizyko-chemiczne ośrodka skalnego są odpowiedzialne za skład zbiorowisk bakteryjnych w badanych ekosystemach podziemnych. Wskazują na to wyniki dotyczące przynależności taksonomicznej uzyskane metodą sekwencjonowania nowej generacji (Next Generation Sequencing), które dowiodły zróżnicowania struktur między zbiorowiskami mikroorganizmów wód chłodnych i termalnych. Polegało ono na dominacji sekwencji *Proteobacteria* na podobnych poziomach w obu typach wód i większym udziale *Firmicutes* w solankach termalnych w porównaniu do solanek chłodnych (22 - 46% v 0.8 - 23%). W chłodnych solankach stwierdzono przewagę sekwencji przynależnych do rodzajów: *Halomonas*, *Idiomarina*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* oraz *Desulfotomaculum* i *Desulfotignum* podczas gdy w solankach geotermalnych w większości notowano sekwencje przypisane do *Halothiobacillus* oraz *Methylobacterium*. Ponadto dominacja szczepów *Bacillus simplex* wśród izolatów pozyskanych w metodach hodowlanych z wapna posodowego jak i chłodnych solanek wskazała na ekstremalny charakter tego ekosystemu podziemnego. Natomiast w solankach geotermalnych wykazano przewagę gatunku *Bacillus paralicheniformis*, charakteryzującego się wysokim wskaźnikiem adaptacji temperaturowej oraz niskim stosunkiem zawartości kwasów tłuszczowych obecnych w błonach komórkowych, co pozwoliło na zaliczenie badanego szczepu do grupy termofilnych/wysoco termotolerancyjnych organizmów.

Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe obejmują bardzo istotne z poznawczego i utylitarnego punktu widzenia zagadnienia rozpoznania unikalnych, ekstremalnych środowisk sztucznych i naturalnych o różnym stopniu zasolenia pod względem zmian bioróżnorodności i struktury zespołów mikroorganizmów je zasiedlających, określenia czynników fizyko-chemicznych determinujących tą strukturę oraz zbadanie fizjologii i potencjalnych możliwości wykorzystania konkretnych izolatów w przemyśle i ochronie środowiska. Podjęcie przez Habilitantkę trudu zanalizowania skomplikowanych pod względem mikrobiologicznym ekstremalnych środowisk naturalnych i sztucznych zasługuje na pełne uznanie. Pani dr Agnieszka Kalwasińska wykorzystując nowoczesne metody badawcze (wysokoprzepustowe sekwencjonowanie amplikonów 16S rDNA, sekwencjonowanie całych genomów) w pełni zrealizowała założone cele i w znacznym stopniu wypełniła lukę w dotychczasowej wiedzy dotyczącej naturalnych i sztucznych środowisk ekstremalnych i mikroorganizmów je zasiedlających. O międzynarodowym zainteresowaniu tematyką badań podjętych przez Habilitantkę świadczy fakt, że przedstawione publikacje ukazały się w bardzo dobrych czasopismach o zasięgu światowym, co dodatkowo potwierdza wysoki poziom naukowy wykonanych badań.

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że osiągnięcie naukowe zatytułowane „Zbiorowiska bakteryjne i archeonowe ekstremalnych środowisk o różnym stopniu zasolenia” spełnia wszystkie kryteria wymagane w postępowaniu habilitacyjnym. Ma ono oryginalny charakter i stanowi znaczny wkład dr Agnieszki Kalwasińskiej w rozwój reprezentowanej przez Habilitantkę dyscypliny naukowej. Prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały opublikowane w czasopismach naukowych, w których musiały zostać poddane szczegółowym recenzjom redakcyjnym, a ich pozytywny charakter świadczy o wysokiej wartości naukowej. Zatem stwierdzam, że przedmiotowe osiągnięcie naukowe spełnia kryteria określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018, poz. 1668).

Biorąc pod uwagę całokształt ocenianego osiągnięcia naukowego, jego aplikacyjny i praktyczny aspekt, stwierdzam, że Pani dr Agnieszka Kalwasińska, poprzez opublikowanie sześciu prac zatytułowanych dla potrzeb niniejszego postępowania habilitacyjnego „Zbiorowiska bakteryjne i archeonowe ekstremalnych środowisk o różnym stopniu zasolenia”, wniosła znaczący wkład do reprezentowanej dyscypliny naukowej, którą jest biologia.

Ocena pozostałego opublikowanego dorobku naukowego, zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018, poz. 1668).

Dorobek naukowy dr Agnieszki Kalwasińskiej, poza publikacjami stanowiącymi osiągnięcie naukowe, obejmuje 31 prac (w tym 24 po doktoracie), z których 26 (w tym 19 po doktoracie) zostało opublikowanych w czasopiśmie z bazy JCR o IF w zakresie od 0,308 do 3,611. Wśród nich znajdują się takie prestiżowe czasopisma jak: *Biodegradation*, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *Clean - Soil, Air, Water*, *Current Microbiology*, *Environmental Science: processes & impacts*, *International Biodeterioration and Biodegradation*, *Extremophiles*, *Microbial Ecology*, *Journal of Polymers and the Environment*. Uzupełnienie dorobku Habilitantki stanowi 1 współautorstwo monografii w języku polskim wraz 4 współautorskimi rozdziałami w monografii naukowej w języku angielskim. Wszystkie prace nie wliczone do osiągnięcia naukowego są wieloautorskie (od 2 do 7 osób). W szesnastu artykułach Habilitantka jest pierwszym autorem, w piętnastu drugim i trzecim autorem, a w pozostałych czwartym lub kolejnym. Niestety w dostarczonej dokumentacji brak jest informacji dotyczących procentowych udziałów Habilitantki w powstawaniu poszczególnych publikacji, nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Jednak biorąc po uwagę fakt, że w wielu z nich jest pierwszym autorem i pomysłodawcą koncepcji badań lub współwykonawcą odpowiedzialnym za: wykonanie badań laboratoryjnych i ich opracowanie w tym również statystyczne, przygotowanie manuskryptów prac i ich korekty po recenzjach, nie budzi wątpliwości, iż udział dr Agnieszki Kalwasińskiej w powstawaniu tych publikacji był znaczący na etapie prowadzonych doświadczeń i procesów edycyjnych. Łączna punktacja w zakresie dorobku naukowego, który nie został włączony do osiągnięcia naukowego wynosi 667 pkt. MNiSW a ich sumaryczny Impact Factor to 31,819 z liczbą cytowań według bazy Web of Science – 172 (158 bez autocytowań) i średniej cytowań na pracę 6,37. Z analizy treści prac wynika, że pozycje stanowiące pozostały dorobek naukowy (nie obejmujący osiągnięcia naukowego) Habilitantki klasyfikują nury badawcze mieszczące się w szerokim zakresie zagadnień związanych z mikrobiologią środowisk naturalnych, mikrobiologią przemysłową i biotechnologią. Obejmują one żmudne i długookresowe badania dotyczące: poznania funkcji mikroorganizmów w ekosystemach wód powierzchniowych i podziemnych, wpływu antropopresji na zbiorowiska mikroorganizmów, monitorowania jakości i bezpieczeństwa mikrobiologicznego powietrza, w aspekcie rozprzestrzeniania się bioaerozolu bakteryjnego i grzybowego w pomieszczeniach użyteczności publicznej, wokół obiektów komunalnych lub służących celom zdrowotnym, udziału mikroorganizmów glebowych i ryzosferowych w procesie oczyszczania ścieków bytowo-gospodarczych, oceny wpływu pochodnych PHMG na przeżywalność i aktywność enzymatyczną mikroorganizmów oraz

możliwości wykorzystania mikroorganizmów w procesach biotechnologicznych. Prezentowane przez Dr Agnieszkę Kalwasińską rezultaty badań w opublikowanych pracach są oryginalne i dobrze udokumentowane materiałami eksperymentalnymi a ich interpretacje zostały oparte o bogate piśmiennictwo reprezentujące współczesne poglądy dotyczące analizowanych zjawisk.

O pozycji i rozpoznawalności Pani dr Agnieszki Kalwasińskiej na arenie międzynarodowej świadczą wskaźniki naukometryczne dotyczące całego dorobku naukowego (wraz z pracami stanowiącymi osiągnięcie naukowe). Według bazy Web of Science na dzień 15.01.2021 r liczba cytowań prac, których jest współautorem wynosiła: 196 (174 - bez autocytowań), przy średniej liczbie cytowań na pozycję 5,76, Index Hirscha – 9, sumaryczny IF – 46,949 oraz łączna liczba punktów MNiSW - 1067 (zgodnie z rokiem wydania). Biorąc pod uwagę wysokie wartości tych parametrów należy uznać, że badania Habilitantki zostały dobrze przyjęte przez środowisko naukowe i ilustrują progresywną dynamikę Jej rozwoju naukowego. Przedstawiony dorobek zasługuje na tym większe uznanie, że badania terenowe i laboratoryjne prowadzone przez Kandydatkę wymagają od badacza niezwyklej pracowitości, sumienności i samodyscypliny, które niewątpliwie cechują dr Agnieszkę Kalwasińską. Wraz z aktywnością publikacyjną wyników swoich badań na łamach wysokiej rangi czasopism o zasięgu światowym Habilitantka aktywnie promowała wyniki swoich badań w trakcie krajowych i międzynarodowych konferencji naukowych (9 wystąpień i 26 doniesień).

Na wysoką ocenę zasługuje również aktywność naukowa Kandydatki w zakresie pozyskiwania funduszy na badania w drodze konkursów krajowych i zagranicznych. W początkowym okresie swojej pracy w latach 2002 – 2004 otrzymała dwukrotnie granty UMK (o nr 399-B i 463-B). W okresie od 2005 do 2012 roku kierowała dwoma grantami finansowanymi ze środków pozauczelnianych (nr projektów 2PO4G05229 i N N304 39253). W 2013 r. była głównym wykonawcą w projekcie pt. „Opracowanie biotechnologiczne i wdrożenie do produkcji inokulantu mikrobiologicznego służącego do otrzymywania pasz wysokiej jakości” finansowanego w ramach programu EU Wzmocnienie regionalnego potencjału badań i rozwoju technologii (RPKP.05.04.00-04-004/122014-2015).

O znaczącej pozycji Habilitantki na arenie międzynarodowej świadczą również liczne recenzje prac naukowych, które wykonała na zlecenie kilkunastu redakcji renomowanych czasopism naukowych takich jak: *Science of the Total Environment*, *International Journal of Environmental Health Research*, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *Journal of the Air & Waste Management Association*, *Environmental Monitoring and Assessment*, *Ecological Questions*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *International Journal of Environment and Pollution* i innych.

W ramach podnoszenie swoich kompetencji badawczych Kandydatka odbyła dwa staże. Pierwszy 5-cio dniowy w 2001 r. w Katedrze Mikrobiologii Środowiskowej Wydziału Ochrony Środowiska i Rybactwa, Uniwersytetu Warmińsko - Mazurskiego w Olsztynie. Drugi 6-cio miesięczny (31.10.2015 - 31.03.2016) staż naukowy Habilitantka odbyła (w ramach projektu Visby 2015/2016) w Department of Microbiology oraz Deptment of Forest Mycology and Plant Pathology w Swedish University of Agricultural Sciences, w Uppsali (Szwecja).

Pani dr Agnieszka Kalwasińska podnosiła również swoje kompetencje zawodowe uczestnicząc w następujących szkoleniach i kursach: Technika PCR i jej zastosowania (2001 r.), Statystyka dla przyrodników i humanistów (2014/2015), Statystyka i eksploracja danych, Techniki i narzędzia wizualizacji dużych zbiorów danych oraz Współczesne techniki wyszukiwania, przetwarzania i zarządzania informacją w ramach projektu Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020 (2018/2019).

Odnosząc się do pkt. 3 art. 219 rozdz. 3 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018, poz. 1668) stwierdzam, że dr Agnieszka Kalwasińska prowadząc badania wraz z naukowcami Zakładu Mikrobiologii Eötvös Lorand University w Budapeszcie (Węgry), których efektem było powstanie pięciu publikacji naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Habilitantki, wykazała istotną aktywność naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, w szczególności zagranicznej.

Aktywna współpraca Kandydatki z zespołami badawczymi macierzystej uczelni oraz jednostek zagranicznych (University of Agricultural Sciences, w Uppsali w Szwecji i Eötvös Lorand University w Budapeszcie na Węgrzech) dowodzi wysokich umiejętności i kompetencji Habilitantki w zakresie efektywnego współdziałania oraz świetnego przygotowania do prowadzenia wielokierunkowych badań mikrobiologicznych.

Jako szczególnie cenne uważam, dążenia dr Agnieszki Kalwasińskiej do aplikacyjnego zastosowania prowadzonych badań w ramach współpracy z gospodarką. Wskazują na to dane dotyczące kooperacji Kandydatki z firmą Polmass S.A (w latach 2014 - 2015) w zakresie otrzymywania pasz wysokiej jakości oraz przedsiębiorstwem produkcyjnym Marwit Sp. z o.o. (w latach 2012 - 2013), na zlecenie którego Habilitantka wykonywała ekspertyzy dotyczące mikrobiologicznej jakości surowców oraz gotowych produktów spożywczych.

Wysoka aktywność naukowa dr Agnieszki Kalwasińskiej została doceniona i nagrodzona kilkakrotnie przez JM Rektora UMK. W 2002 i 2004 roku Habilitantka otrzymała dwukrotnie indywidualną nagrodę i wyróżnienie, a w latach 2012 - 2013 również dwukrotnie wyróżnienie zespołowe. Ponadto za swoją działalność naukową Kandydatka została uhonorowana stypendium JM

Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu za wysoko punktowaną publikację naukową w roku akademickim 2018/2019.

Podsumowując swoją opinię w zakresie dorobku naukowego stwierdzam, że dr Agnieszka Kalwasińska wykazuje istotną aktywność naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni/instytucji naukowej w tym również na arenie międzynarodowej. W mojej ocenie całokształt aktywności naukowej Pani dr Agnieszki Kalwasińskiej spełnia wszystkie wymogi stawiane pretendentom aplikującym o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018, poz. 1668) i rekomenduję dopuszczenie Kandydatki do kolejnych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.

Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego, działalności popularyzatorskiej i organizacyjnej

Wynikiem dwudziestoletniej bardzo efektywnej pracy dr Agnieszki Kalwasińskiej na etacie dydaktyczno-naukowym UMK w Toruniu jest bogaty dorobek dydaktyczny Habilitantki. Prowadziła Ona zajęcia z kilkunastu przedmiotów realizowanych na kilku kierunkach studiów tj.: Ochrona Środowiska, Diagnostyka Mikrobiologiczna, Chemia Kosmetyczna, Biotechnologia, Biologia i Biologia sądowa. Obejmowały one wykłady i ćwiczenia z przedmiotów takich jak: Ekstremofile, Biotechnologia środowiskowa, Diagnostyka mikrobiologiczna w laboratoriach przemysłowych, Mikrobiologia ogólna, Mikrobiologia środowiskowa, Mikrobiologia wody i ścieków, Biotechnologia w ochronie środowiska, Mikrobiologia przemysłowa, Utylizacja odpadów, Bioaugmentacja - zastosowanie mikroorganizmów w remediacji i ochronie środowiska, Sukcesja mikroorganizmów na zwłokach kręgowców. Na szczególne podkreślenie zasługuje również fakt, że w trakcie pracy dydaktycznej Pan dr Agnieszka Kalwasińska realizowała zajęcia w języku angielskim z przedmiotów Metagenomics i Biostatistics dla studentów programu Erasmus +.

Habilitantka była również opiekunem naukowym 9 prac magisterskich (przed uzyskaniem tytułu doktora) i promotorem 30 prac magisterskich (po uzyskaniu tytułu doktora) zrealizowanych przez studentów studiów stacjonarnych i niestacjonarnych z kierunków Biotechnologia, Biologia i Ochrona Środowiska w Zakładzie Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii UMK w Toruniu.

Kolejnym znaczącym przejawem działalności dydaktycznej dr Agnieszki Kalwasińskiej było także współautorstwo skryptu „Podstawy mikrobiologii w teorii i praktyce” wydanego przez Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w 2013 roku.

Na wysoką ocenę zasługuje także istotna aktywność Habilitantki z zakresu współorganizacji trzech projektów edukacyjnych propagujących wiedzę mikrobiologiczną zarówno w środowiskach

akademickich jak i innych grupach społecznych i zawodowych. W ramach tej działalności w latach 2013 - 2020 Kandydatka była współorganizatorem następujących kursów:

- „Mikrobiologiczne metody badania wody” oraz „Analizy mikrobiologiczne ścieków, osadu czynnego i osadów ściekowych” wraz z Izbą Gospodarczą „Wodociągi Polskie”,
- dla pracowników naukowych Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego „Analiza strukturalna i funkcjonalna zbiorowisk mikroorganizmów w oparciu o dane metagenomiczne i metatranskryptomomiczne” we współpracy z Ideas4Biology,
- „Identyfikacja molekularna enzymów pochodzenia mikrobiologicznego. Wykorzystanie chromatografii GC/MS do diagnostyki metabolitów” oraz opiekunem realizacji projektu „Wpływ środków ochrony roślin na bioróżnorodność gleby, w ramach projektu: Universitas Copernicana Thoruniensis In Futuro – modernizacja Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w ramach Zintegrowanego Programu Uczelni (projekt nr POWR.03.05.00-00-Z302/17-00).

Aktywność popularyzatorska dr Agnieszki Kalwasińskiej wyraża się wieloaspektowymi działaniami realizowanymi systematycznie od 2012 roku. W ramach tej działalności prowadziła Ona warsztaty w ramach: Toruńskiego Festiwalu Nauki i Sztuki, Nocy Biologów, Fascynującego Dnia Roślin i Dnia Otwartego Wydziału BiOŚ a także zajęcia pokazowe dla uczniów szkoły podstawowej.

Habilitantka jako pracownik naukowo-dydaktyczny Uniwersytetu Mikołaja Kopernika nie zaniedbywała swoich obowiązków związanych z działalnością organizacyjną na rzecz Uczelni, Wydziału i społeczności lokalnych. Wymiernymi efektami tej aktywności był udział Kandydatki w komisji konkursowej na najlepszą pracę licencjacką i magisterską na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska w roku akademickim 2018/2019 oraz dwukrotne członkostwo w Komitetach organizacyjnych Ogólnopolskich Konferencji Hydromikrobiologicznych, które odbyły się w 2002 i 2019 roku.

Podsumowanie oceny osiągnięcia naukowego oraz całokształtu działalności badawczo-naukowej, dydaktycznej i popularyzatorskiej

Na podstawie analizy przedstawionej mi do oceny dokumentacji dr Agnieszki Kalwasińskiej dotyczącej osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej a także działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej i organizacyjnej uważam, że Kandydatka jest dojrzałym i ambitnym pracownikiem naukowym o rozległej wiedzy w zakresie biologii mikroorganizmów ich roli i znaczenia w przyrodzie i gospodarce. Habilitantka posiada bogaty dorobek publikacyjny a Jej aktywność w poznawaniu i analizowaniu różnorodnych aspektów w zakresie mikrobiologicznej

problematyki badawczej świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu Kandydatki zarówno do samodzielnego prowadzenia badań jak również do kierowania zespołami badawczymi.

Bardzo interesujące są plany dalszego rozwoju naukowego dr Agnieszki Kalwasińskiej, która w ramach współpracy interdyscyplinarnej i międzynarodowej zamierza podjąć wyzwanie poznania złożonych zależności zachodzących pomiędzy środowiskiem glebowym a mikroorganizmami i roślinami, które odpowiadają za produkcję i jakość pożywienia. Imponująca wiedza, dotychczasowe doświadczenie i nowoczesny warsztat badawczy Habilitantki w analizowaniu właściwości i roli mikroorganizmów w różnorodnych środowiskach oraz umiejętności współpracy z badaczami reprezentującymi różne dyscypliny z pewnością przyczynią się do realizacji założonych przez dr Agnieszkę Kalwasińską celów.

Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę przedstawione do oceny osiągnięcia naukowe, pozostałą istotną aktywność naukową oraz działalność dydaktyczną, popularyzatorską i organizacyjną dr Agnieszki Kalwasińskiej stwierdzam, że spełniają wymogi art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018, poz. 1668). W związku z powyższym rekomenduję członkom Komisji Habilitacyjnej powołanej przez Radę Naukową w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu poparcie wniosku Pani dr Agnieszki Kalwasińskiej i nadanie tytułu doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie biologia.

Olsztyn, 15.01.2021 r.

Iwona Gołaś
dr hab. inż. Iwona Gołaś, prof. UWM