

Prof. dr hab. Janusz Błaszczkowski
Pracownia Ochrony Roślin
Zachodniopomorski Uniwersytet
Technologiczny w Szczecinie

Szczecin, 15.02.2024

Recenzja osiągnięcia naukowego pt. „Rola endofitów grzybowych w adaptacji roślin do środowiska”

przygotowanego przez dr. inż. Rafała Ważnego z Małopolskiego Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie w celu otrzymania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe pt. **„Rola endofitów grzybowych w adaptacji roślin do środowiska”** zostało przygotowane na podstawie pięciu publikacji, których pierwszym autorem jest dr inż. R. Ważny. Wszystkie publikacje zostały wydane w międzynarodowych czasopismach naukowych o wysokich i bardzo wysokich współczynnikach oddziaływania. Według Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, czasopisma te są oceniane na 100 (dwa czasopisma), 140 (jedno) i 200 punktów (dwa). Z wyjątkiem pracy opublikowanej w roku 2023, pozostałe publikacje z lat 2018 do 2022 już zostały uznane za warte cytowania. Według baz danych Web of science i Scopus, łączne liczby cytowań tych prac wynoszą odpowiednio 51 i 53, co jednoznacznie świadczy o bardzo wysokiej wiarygodności naukowej tych prac i ich pierwszego autora. Co więcej, uczestnictwo pozostałych Współautorów w przygotowaniu tych publikacji, wśród których są naukowcy o olbrzymich osiągnięciach naukowych, dowodzi, że Opiniowany potrafi skutecznie organizować, prowadzić i finalizować prace badawcze.

Podjęte badania przez Opiniowanego wynikły z potrzeby minimalizowania i zapobiegania szkodliwego oddziaływania człowieka na środowisko przez wykorzystanie potencjału biologicznego tego środowiska. Stosunkowo dobrze poznanym źródłem takiego potencjału, zawierającym organizmy zdolne do łagodzenia oddziaływania szkodliwych czynników dla roślin i siedlisk ich funkcjonowania, a nawet zapobiegające takim wpływom, są grzyby mykoryzowe. Natomiast stan poznania funkcjonowania roślin niemykoryzowych, tj. około 29% wszystkich gatunków roślin naczyniowych świata, jest relatywnie bardzo słaby. To spowodowało, że Opiniowany trafnie zajął się endofitami, którym w ostatnich latach inni naukowcy poświęcili dużo uwagi i zainteresowanie to rośnie, ponieważ dotyczy ważnych grup roślin rosnących w siedliskach naturalnych i uprawnych, w tym roślin z rodziny Brassicaceae. Endofitami są mikroorganizmy, które występują powszechnie, są taksonomicznie różne (bakterie i grzyby), zamieszkują (przez cały cykl życiowy lub jego część) wnętrza roślin (organy nadziemne i korzenie), nie wywołują objawów chorobowych i mogą zwiększać wzrost oraz poprawiać kondycję roślin. A więc pierwsze trzy wymienione cechy endofitów świadczą, że reprezentują one grupę organizmów, które są wyjątkowo trudne do izolowania i charakteryzowania. Mimo tego Opiniowany przyjął to wyzwanie, co dowodzi o Jego niezłomności i gotowości do rozwiązywania nawet bardzo trudnych zadań. Dane literaturowe, w tym prace opublikowane przez Zespół, w którym pracuje Opiniowany, dowiodły, że endofity mogą efektywnie wspomagać przetrwanie roślin w siedliskach zanieczyszczonych metalami

toksycznymi, wykorzystując dwie strategie. Pierwsza prowadzi do akumulacji dużych ilości tych metali w częściach nadziemnych roślin, a druga wynika z możliwości unikania ich toksycznego wpływu. Mimo dotychczasowych osiągnięć dotyczących wiedzy o endofitach i interakcji z ich roślinami gospodarzami, skład i rola mikrobioty, w tym endofitów i grzybów mykoryzowych, są nadal słabo poznane. Dlatego celem Opiniowanego w trakcie przygotowywania ocenianego osiągnięcia naukowego było dalsze wzbogacenie wiedzy o różnorodności i roli grzybów endofitycznych w adaptowaniu roślin do siedlisk poddanych oddziaływaniu metali toksycznych. W szczególności Opiniowany skoncentrował się na (i) oddziaływaniu metali toksycznych na zbiorowiska grzybów zasiedlających endosferę rośliny, (ii) roli endofitów grzybowych w procesie akumulacji metali przez hiperakumulatory i (iii) roli koinokulacji grzybami endofitycznymi i mykoryzowymi w adaptacji roślin do środowiska.

Wyniki badań nad pierwszym z wymienionych wyżej zagadnień zostały opublikowane w pracy pt. „How does metal soil pollution change the plant mycobiome?” Mocnym uzasadnieniem przyjętego kierunku badań było podkreślenie, że, w przeciwieństwie do mikroorganizmów glebowych, bardzo niewiele wiadomo o strukturze zbiorowisk organizmów, w tym grzybów, endofitycznych roślin rosnących w siedliskach silnie skażonych metalami toksycznymi. Rośliną, którą słusznie wykorzystano do bardzo dobrze zaplanowanych badań była *Arabidopsis arenosa*, która jest modelowym pseudometalofitem, powszechnie wykorzystywanym w podobnych analizach. Zakres i wielkość zmian, które zaplanowano określić, badano na podstawie porównań uwzględnionych cech, gdy zbiorowiska *A. arenosa* zasiedlały hałdę Bolesław i rosły w siedlisku nieskażonym. Aby wiarygodnie zdefiniować wspomniane zmiany, najpierw zebrano dane o własnościach gleb i składzie florystycznym badanych siedlisk, które były niezbędne do późniejszego analizowania ich wpływu na skład endofitów korzeni i liści oraz grzybów glebowych. Co więcej, zaobserwowane zmiany porównano z efektami hodowania *A. arenosa* w laboratoryjnym doświadczeniu rekonstrukcyjnym. W doświadczeniu tym testowaną roślinę, która rosła w podłożu z metalami toksycznymi i bez nich, zainokulowano konsorcjum zawierającym 23 szczepy grzybów endofitycznych. W obu badaniach obecność uwzględnionych mikroorganizmów określano wykorzystując najbardziej nowoczesną metodę sekwencjonowania następnej generacji. A więc, podjęty zakres analiz i użyte metody oraz narzędzia zapewniały osiągnięcie postawionego celu i otrzymanie wyników wiarygodnych, które przez to następnie mogły być łatwo interpretowane i porównywane z innymi.

Opiniowany stwierdził aż 25% ograniczający wpływ metali toksycznych na bioróżnorodność mykobioty gleby, co wydawałoby się skutkiem oczywistym. Natomiast zaskakującym i niezwykle interesującym efektem było to, że te same metale nie redukowały jednakowo liczby rodzajów endofitów, ale wyraźnie zmieniły strukturę ich zbiorowisk, redukując selektywnie analizowane taksony o kilka do kilkunastu procent. To selektywne działanie zostało następnie potwierdzone w rekonstrukcyjnym doświadczeniu laboratoryjnym, w którym podłoże wzrostowe roślin *Arabidopsis arenosa* zostało zainokulowane mieszaniną zawierającą 23 szczepy grzybów endofitycznych i zostało lub nie zostało (wariant kontrolny) potraktowane metalami toksycznymi. Należy podkreślić, że wybór izolatów był bardzo dobrze uzasadniony na podstawie wcześniej wyizolowanych około 600 szczepów grzybów endofitycznych, wiarygodnie zidentyfikowanych, używając sekwencji regionu ITS i genu LSU. Co więcej, w wyborze tym kierowano się dwoma kryteriami, z których pierwsze uwzględniło ograniczający wpływ toksycznych metali, poznany z analiz molekularnych otrzymanych z sekwencjonowania następnej generacji, a drugie uwzględniło grzyby wyizolowane z endosfery roślin kontrolnych. Doświadczenie to ukazało, że najbardziej wrażliwymi endofitami na metale toksyczne byli przedstawiciele klasy Agaricomycetes. Skutkiem dalszego dociekania Opiniowanego, które zmierzało do wyjaśnienia, które z oddziaływań spowodowało ujawnione efekty, był niezwykle

interesujący wniosek. Na podstawie analiz indeksu tolerancji badanych grzybów na metale, uznał, że zmiany w zbiorowiskach grzybów endofitycznych, które pochodziły z gleby, spowodowane metalami toksycznymi miały złożone pochodzenie: głównie wynikły z wzajemnej preferencji współżyjących w symbiozie roślin i grzybów. Wyrazem wspomnianej dociekliwości i dążności do osiągnięcia przyjętego celu badawczego jest również to, że Opiniowany mógł użyć w doświadczeniach bogatą kolekcję endofitów dzięki podjętym staraniom skierowanym do ośrodków naukowych w Austrii, Słowacji i Polski.

Wyniki badań roli endofitów grzybowych w akumulowaniu metali przez hiperakumulatory Opiniowany scharakteryzował w dwóch pracach zatytułowanych „The effect of endophytic fungi on growth and nickel accumulation in *Nocca* hyperaccumulators” i „Phytohormone based biostimulant combined with plant growth promoting endophytic fungus enhances Ni phytoextraction of *Nocca goesingensis*”. Należy podkreślić aspekt nowości wprowadzony do przeprowadzonych badań, którego wyrazem było zaangażowanie grzybów endofitycznych, jako potencjalnych hiperakumulatorów niklu, wcześniej nie uwzględnianych w podobnych analizach. Hiperakumulatory mogą być użyte w fitowydobyciu metali rzadkich ze środowiska. Efektami bardzo racjonalnie ukierunkowanych badań, które pozwoliły na wyrażenie przekonywujących wniosków i hipotez, były:

1. Zidentyfikowanie 40 gatunków grzybów endofitycznych wśród 87 szczepów wyizolowanych z trzech gatunków hiperakumulatorów. Siedem gatunków zwiększało produkcję biomasy hiperakumulatora *Nocca caerulescens*, sześć stymulowało tę roślinę do zwiększania akumulacji Ni, a cztery zwiększały przemieszczanie Ni z korzeni do pędów. To świadczyło o ochronnym funkcjonowaniu endofitów grzybowych względem ich roślin gospodarzy w warunkach szkodliwego oddziaływania metali toksycznych.
2. Wykazanie, na podstawie obserwacji *Plectosphaerella columnaris*, jedyne gatunku grzyba występującego w endosferze wszystkich testowanych gatunków roślin rosnących w glebach zasobnych w Ni, tzw. serpentynitów, że (i) adaptacja grzybów do metali toksycznych wynika z aktywacji ogólnych mechanizmów odpowiedzialnych za znoszenie stresów wszelkich metali ciężkich, a nie tylko jednego metalu i (ii) wielkość akumulacji Ni w roślinach zależy od kompatybilności roślina – mikroorganizm, która jest rozwijana w długim okresie czasu.
3. Ujawnienie, w następstwie ogólnej analizy ekspresji genów, związku między zwiększoną akumulacją Ni przez rośliny i wzrostem ekspresji genów odpowiedzialnych za pobór metali i ochronę roślin przed ich szkodliwym oddziaływaniem. Jednym z takich genów okazał się gen ZIP5 (*zinc transporter 5*), który był znany z odpowiedzialności za transport błonowy cynku. Natomiast żadne doniesienie naukowe nie informowało o roli tego genu w przenoszeniu Ni, co jest kolejną nowością odkrytą przez Opiniowanego.
4. Wskazanie możliwości praktycznego wykorzystania otrzymanych wyników w fitowydobyciu Ni przez zaangażowanie przetestowanych szczepów grzybowych, które potencjalnie będą najbardziej efektywne w tym procesie. Wskazanie to już zostało docenione i jest wdrażane przez Zespół Biochemii Gleby Instytutu Badań Agrobiologicznych Galicji w Hiszpanii.

W następnej publikacji pt. „Phytohormone based biostimulant combined with plant growth promoting fungus enhances Ni phytoextraction of *Nocca goesingensis*” Opiniowany przedstawił wyniki badań and efektywności fitoekstrakcji Ni przez *N. goesingensis* po inokulacji *Phomopsis columnaris*, grzyba endofitycznego o wyróżniających zdolnościach w tym zakresie, jak wykazały wcześniejsze badania własne, i traktowaniu tej rośliny biostymulatorem o nazwie Kelpak. Wybór biostymulatora wynikł z badań innych autorów, którzy wykazali jego zdolność do zwiększonego gromadzenia Ni w hiperakumulatorach.

Chociaż badania te potwierdziły większość prawdopodobnie spodziewanych skutków oddzielnego oddziaływania każdego z analizowanych rodzajów wpływów, najbardziej wartościowym osiągnięciem przeprowadzonych analiz było ujawnienie złożoności pochodzenia efektu końcowego. Wykazano bowiem, że *P. columnaris* i biostymulator Kelpak nie zwiększały pobierania Ni przez rośliny, czego się nie spodziewano, ale inokulacja tym grzybem i jednoczesne traktowanie roślin grzybem i biostymulatorem spowodowały olbrzymi wzrost ogólnego plonu Ni w roślinach, tj. o odpowiednio 48% i 69%, który był skutkiem pośrednim, ponieważ wynikał ze stymulacji produkcji biomasy *N. goesingensis*. Ponadto Opiniowany, po sformułowaniu protokołu pozwalającego oznaczyć ilość DNA pochodzącego od *P. columnaris* za pomocą techniki qPCR, wykazał, że biostymulator zwiększył obecność endofity prawie 5-krotnie. W konsekwencji omawiana publikacja stanowi istotny krok w kierunku usprawnienia fitowydobycia Ni i przez to zwiększenia (i) zysku ekonomicznego dla zainteresowanych, (ii) procesu oczyszczania gleb z metali i (iii) jakości metod przyjaznego dla środowiska pozyskiwania Ni.

Ostatnim z trzech problemów, który Opiniowany analizował była rola koinokulacji grzybami endofitycznymi i mykoryzowymi w adaptacji roślin do środowiska. Wyniki tych analiz zawierają dwie publikacje: „Does coinoculation of *Lactuca serriola* with endophytic and arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth in a polluted environment?” i “Biotization of highbush blueberry with ericoid mycorrhizal and endophytic fungi improves plant growth and vitality”. Wybór problemu był trafny, bo wynikał ze słabości jego dotychczasowego stanu poznania i niejednoznaczności. Obie słabości były głównie spowodowane brakiem poznania takich kryteriów doboru partnerów do szczepionek wielogatunkowych, aby zastosowana szczepionka poprawiała uwzględniane własności u zainokulowanych roślin.

W pierwszej z wymienionych prac naukowych Opiniowany zogniskował uwagę na skutkach inokulowania *Lactuca serriola* *Rhizoglosum intraradices*, arbuskularnym grzybem mykoryzowym, i grzybami endofitycznymi, *Mucor* sp. oraz *Trichoderma asperellum*, na wzrost i witalność roślin, akumulację metali toksycznych i produkcję metabolitów wtórnych. *Lactuca serriola* jest przykładowym pionierem siedlisk ubogich w wodę i składniki odżywcze, w tym hałd; aby przeżyć w stanowiskach skażonych, roślina ta wykorzystuje strategię unikania akumulacji metali toksycznych. Poza bardzo szczegółowymi i jasnymi prezentacjami efektów pojedynczego oddziaływania uwzględnionych mikroorganizmów, najbardziej interesującymi i wartościowymi pod względem naukowym i praktycznym są wnioski wynikające z analiz koinokulacji *L. serriola* tymi mikroorganizmami. Stwierdzono bowiem, że w siedliskach skażonych metalami toksycznymi, oddziaływanie grzybów endofitycznych nie zawsze jest korzystne, bo w dużym stopniu zależy od gatunku grzyba. Co więcej, Opiniowany uznał, że strategia roślin podczas adaptowania do środowiska skażonego metalami toksycznymi może być modyfikowana przez grzyby symbiotyczne i zależy od efektu synergistycznego pochodzącego od współwystępujących gatunków grzybów. W końcu Opiniowany wyraził przekonanie, że koinokulacja przynosi więcej korzyści roślinom niż inokulacja pojedynczym gatunkiem grzyba, mimo że koszty ponoszone przez rośliny koinokulowane są wyższe. Ostatni wniosek jest bardzo wartościową wskazówką dla badaczy i praktyków, podpowiadającą konieczność właściwego doboru mikroorganizmów, aby ich oddziaływanie skutkowało otrzymaniem oczekiwanych rezultatów.

Zagadnieniem koinokulacji również zajmuje się druga z publikacji wymienionych wyżej, której powstanie zainspirowały wyniki omówione w pracy poprzedniej, rzadkie określanie wpływu kilku gatunków grzybów przez innych badaczy i brak informacji w literaturze o badaniach jednoczesnego wpływu grzybów erikoidalnych i grzybów endofitycznych. Tym razem obserwowano wpływ mykoryzowych grzybów erikoidalnych i grzybów endofitycznych na bardzo znaczącą gospodarczo roślinę, borówkę wysoką (*Vaccinium corymbosum*). Celem

Opiniowanego było opracowanie technologii biotyżacji tej rośliny. Ponownie, aby osiągnąć ten cel, Opiniowany bardzo racjonalnie i ze znanstwem zaplanował trzy etapy badań: w pierwszym chodziło o poznanie gatunków grzybów erikoidalnych związanych z korzeniami włosowatymi borówki wysokiej na podstawie analiz sekwencji nukleotydów w regionie ITS rDNA, celem drugiego etapu było wyselekcjonowanie gatunków grzybów erikoidalnych do konsorcjum obecnym w inokulum, które miało zostać sformułowane, a w trzecim etapie zaplanowano weryfikację przyjętej technologii użycia inokulum na skalę półprzemysłową. W końcu drugiego etapu, w którym do dalszych badań wybrano trzy gatunki grzybów erikoidalnych (spośród 39 wyizolowanych szczepów) i określono ich wpływ na wzrost borówki po inokulacji każdym gatunkiem oddzielnie i łącznie, ponownie okazało się, że użycie inokulum z trzema gatunkami grzybów erikoidalnych spowodowało relatywnie najwyższy wzrost roślin, nawet o 34%, a włączenie endofitycznego grzyba z rodzaju *Xylaria* do tego trzYGatunkowego inokulum jeszcze powiększyło to oddziaływanie. Tak mądrze prowadzone badania musiały się skończyć sukcesem w trzecim etapie, w którym Opiniowany współpracował z przedsiębiorstwem produkującym sadzonki. Inokulacja jednorocznych roślin borówki czterogatunkową szczepionką zwiększyła biomasę roślin nawet o 33% i powierzchnię liści o 61%. Gdy zainokulowano taką szczepionką rośliny starsze, w okresie przesadzania, wzrosty były nieoczekiwanie nadzwyczaj wysokie i wynosiły odpowiednio 62% i 100% w porównaniu do roślin nieinokulowanych; inokulacja również zwiększyła wydajność fotosyntezy. To niezwykle wartościowe ujawnienie znacznie zwiększyło możliwość zastosowania opracowanej technologii w praktyce. Tak się stało, a dowodem tego było przyznanie patentu przez Urząd Patentowy RP (Pat. 238335), przyjęcie zgłoszenia przez The Patent Cooperation Treaty i European Patent Organization i podjęcie, za pośrednictwem Centrum Transferu Technologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, rozmów z producentami borówki wysokiej na temat komercjalizacji tej technologii.

Kończąc ocenę osiągnięcia naukowego Opiniowanego muszę jeszcze wyrazić moje niezwykle pozytywne odczucia po przeczytaniu każdej publikacji reprezentującej to osiągnięcie. Wszystkie prace zostały perfekcyjnie przygotowane pod względem (i) jakości tekstu i użytego języka angielskiego, (ii) zastosowanych metod badawczych, które należą do najbardziej nowoczesnych i uznanych za wiarygodne, (iii) sposobu przedstawienia zgromadzonych danych, w tym bardzo starannie przygotowanych tabel i rycin i (iv) sposobu przedyskutowania tych danych, który jest wnikliwy i profesjonalny. Oczywiście, osiągnięcie to jest wielkim sukcesem przede wszystkim Opiniowanego, ale w znacznej części również Zespołu, w którym Opiniowany pracował, w tym Pani prof. dr. hab. Katarzyny Turnau, członka rzeczywistego PAN, która kierowała tym Zespołem.

Poza bardzo wartościowymi efektami działalności naukowej, których wyrazem jest osiągnięcie naukowe scharakteryzowane wyżej, Opiniowanego również bardzo pozytywnie wyróżniają inne aktywności naukowe i pokrewne nauce, które niewątpliwie przyczyniły się do opanowania niezbędnych umiejętności i w konsekwencji osiągnięcia bardzo wysokiego poziomu naukowego. Wśród nich były m.in.:

1. Poznanie bardzo trudnych metod identyfikowania i klasyfikowania ektomykoryz przez użycie metod molekularnych. Odbywało się to pod kierunkiem prof. dr. hab. Marii Rudawskiej i dr. hab. Tomasza Leskiego w Instytucie Polskiej Akademii Nauk w Kórniku. Zdobyte umiejętności zostały wykorzystane do przygotowania dysertacji, której promotorem był prof. dr. hab. Stefan Kowalski, i dwóch publikacji.
2. Uczestnictwo w projekcie pt. „Utworzenie dla obszaru Sudetów i Beskidu Zachodniego leśnego systemu informacji w zakresie monitoringu i oceny stanu lasu”, w którym

Opiniowany był odpowiedzialny za zgromadzenie danych o występowaniu ektomykoryz i patogenów drzew leśnych.

3. Zainicjowanie badań roli grzybów endofitycznych w przystosowaniu roślin do środowisk skażonych metalami toksycznymi w ramach projektu MAESTRO pt. „Endofity jako nowe narzędzie w fitoremediacji”, którego kierownikiem była prof. dr hab. Katarzynę Turnau. Efektami tych badań było sześć publikacji z udziałem Opiniowanego; w jednej z nich był autorem pierwszym i korespondencyjnym.
4. Uczestnictwo w tygodniowym szkoleniu w ramach akcji EU COST pt. „Charakterystyka aktywnych biologicznie metabolitów wtórnych u grzybów endofitycznych”. Szkolenie to odbyło się na Wydziale Leków Mikrobiologicznych (Helmholtz-Centrum Badań nad Zakazeniami, Braunschweig, Niemcy).
5. Pełnienie w latach 2016-2018 roli wykonawcy w projekcie pt. „Rozwój rolniczego pozyskiwania Ni na terenach ultramaficznych Europy” (Projekt FACCE SURPLUS), gdzie głównym wykonawcą była prof. dr hab. K. Turnau. W czasie realizacji projektu, Opiniowany nawiązał współpracę z prof. Petrą Kidd z Instytutu Badań Agrobiologicznych Galicji Hiszpańskiej Krajowej Rady ds. Badań Naukowych, Santiago de Compostela, gdzie następnie odbył dwutygodniowy staż w Zakładzie Biochemii Gleby. Owocem tej współpracy były trzy publikacje, w tym dwie, w których Opiniowany jest autorem pierwszym i korespondencyjnym.
6. Realizowanie w latach 2016-2018 projektu pt. „Opracowanie technologii biotyzacji w komercyjnej, ekologicznej produkcji owoców jagodowych” (Projekt TANGO1), kierowanego przez prof. dr hab. K. Turnau, czego efektem było przygotowanie patentu krajowego, dwóch zgłoszeń międzynarodowych i dwóch publikacji z wiodącym udziałem Opiniowanego; w jednej jest pierwszym autorem.
7. Współpraca, w latach 2018-2022, w realizacji projektu pt. „Rola grzybów endofitycznych w odporności *Arabidopsis arenosa* na wysoką zawartość metali toksycznych” (Projekt OPUS14, kierowany przez dr. hab. Piotra Rozpądkę, prof. UJ). Otrzymane wyniki zostały przedstawione w trzech publikacjach, z których w jednej Opiniowany jest autorem wiodącym.
8. Kierowanie, obecnie, projektem OPUS22 i pełnienie funkcji wykonawcy w trzech innych projektach OPUS. Zadaniem Opiniowanego w tych projektach jest zidentyfikowanie mikrobioty gleby i drewna, używając techniki sekwencjonowania następnej generacji. Osiągnięciami dotychczas przeprowadzonych badań są dwie współautorskie publikacje.
9. Współpraca, od roku 2015, z Akademią Sztuk Pięknych polegająca na (i) udzielaniu porad dla studentów, (ii) od roku 2019, prowadzeniu kursu z zakresu mikrobiologii (wykłady, ćwiczenia, konwersatoria) dla studentów pierwszego roku i (iii) udzielaniu konsultacji dla dyplomantów na Wydziale Konserwacji i Renowacji Dzieł Sztuki. W wyniku tej współpracy powstały dwie publikacje naukowe na temat biodeterioracji obiektów zabytkowych, których Opiniowany jest współautorem.

W końcu, o wyróżniająco aktywnej działalności naukowej i wysokim poziomie naukowym Opiniowanego świadczą następujące fakty:

1. Autorstwo lub współautorstwo 28 artykułów w czasopismach naukowych, w tym 23 o zasięgu międzynarodowym z listy filadelfijskiej, trzech krajowych i dwóch międzynarodowych zgłoszeń patentowych oraz jednego patentu krajowego.
2. Prezentacja wyników badań na 35 konferencjach zagranicznych i dwóch krajowych, z których w 11 Opiniowany brał czynny udział, wygłaszając pięć referatów i prezentując

sześć posterów. Dwukrotnie otrzymał wyróżnienie: w roku 2017 za poster "Endophytic fungal mycobiota in hyperaccumulating *Thlaspi*", zaprezentowany na konferencji „The 9th International Conference on Serpentine”, Tirana, Albania, i w roku 2022 za wystąpienie pt. "Jak metale toksyczne zmieniają mykobiom rośliny?", zaprezentowane na VI. Ogólnopolskim sympozjum mikrobiologicznym „Metagenomy różnych środowisk”, Puławy.

3. Zrealizowanie ośmiu projektów badawczych dla siedmiu przedsiębiorstw, w ramach współpracy z sektorem gospodarki. W dwóch z tych projektów był kierownikiem, a w pozostałych wykonawcą. Projekty kierowane przez Opiniowanego były zleceniami dużych podmiotów gospodarczych, tj. Zakładów Chemicznych Siarkopol i PGL Lasów Państwowych.
4. Odbycie 6-miesięcznego stażu w przedsiębiorstwie w ramach projektu „Innowacyjny Transfer” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, w czasie którego opracowywał szczepionki mykoryzowe dla roślin stosowanych w rekultywacji terenów zanieczyszczonych przez przemysł.
5. Przygotowanie 31 recenzji manuskryptów dla 20 czasopism o zasięgu międzynarodowym, takich jak np. Symbiosis, Environmental Microbiology, Science of the Total Environment, Environmental Pollution, Fungal Ecology, Mycorrhiza i Journal of Hazardous Materials, oraz trzech recenzji prac licencjackich.
6. Otrzymanie, za osiągnięcia naukowe, nagrody Rektora 3. stopnia w roku 2019 i 1. stopnia w roku 2022.
7. Osiągnięcie bardzo wysokiego poziomu danych bibliometrycznych, które według baz danych Scopus i Web of Science z 2.05.2023 r. wynoszą:

Parametr	Scopus	Web of Science
Liczba publikacji	23	23
Liczba cytowań	473	415
Liczba cytowani bez autocytacji	429	371
Indeks Hirscha	12	12
Impact factor (IF)	118,423	
Punkty MNiSW	2960	

Będąc pracownikiem naukowym Małopolskiego Centrum Biotechnologii, Opiniowany nie był zobowiązany do prowadzenia zajęć dydaktycznych. Mimo tego, poza współpracą z Akademią Sztuk Pięknych w Krakowie, której zakres omówiono wyżej, Opiniowany jeszcze zajmował się kilkoma innymi działaniami dydaktycznymi:

1. Przygotował trzy recenzje prac licencjackich w roku 2015.
2. Współprowadził zajęcia laboratoryjne dla studentów kursu „Ecology of fungi” w latach 2014-2016.
3. Opiekował się stażem naukowym dwóch doktorantów w latach 2022-2023.
4. Był opiekunem naukowym praktyk dla sześciu studentów kierunków biotechnologicznych w Małopolskim Centrum Biotechnologii w roku 2022.

Opiniowany był również bardzo aktywny w działalności organizacyjnej i popularyzującej naukę, jako:

1. Członek komitetu organizacyjnego międzynarodowej konferencji pt. „Exo- & endogenous signalling”, przeprowadzonej w ramach akcji COST FA1206 & FA1103, Kraków, 2014.
2. Członek komitetu organizacyjnego międzynarodowej konferencji pt. „Challenges of biotechnology in 21st century”, Kraków, 2014.
3. Zastępca członka Komisji Dyscyplinarnej dla Nauczycieli Akademickich na kadencję 2016-2020.
4. Ekspert w zakresie organizacji laboratoriów biologii roślin w zespole powołanym do opracowania Planu Funkcjonalno-Użytkowego dla planowanej rozbudowy Małopolskiego Centrum Biotechnologii, rok 2020.
5. Członek Senatu Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie w grupie przedstawicieli nauczycieli akademickich zatrudnionych na stanowiskach innych niż profesora lub profesora uczelni na kadencję 2020-2024.
6. Prowadzący cykliczne warsztaty dla młodzieży szkolnej w zakresie mikrobiologii środowiskowej w Małopolskim Centrum Biotechnologii UJ, w latach 2018-2020.
7. Członek zespołu biorącego udział w II. Powiatowym Sympozjum Murawowym w Centrum Promocji Obszarów Natura 2000 w Pstroszycach, 21.06.2021.

Biorąc pod uwagę liczne zalety osiągnięcia naukowego i innych form aktywności omówionych wyżej, w tym przede wszystkim to, że: (i) wynikiem tych aktywności jest wprowadzenie wyjątkowo dużo nowych i bardzo wartościowych danych do wiedzy o roli endofitów w adaptowaniu roślin do środowisk skażonych, (ii) zgromadzenie tych danych wymagało przeprowadzenia bardzo intensywnych i trudnych badań polowych i laboratoryjnych oraz (iii) otrzymane wyniki badań i efekty innej działalności świadczą o olbrzymiej pracowitości, wiedzy i intuicji badawczej Autora osiągnięcia, jak również o Jego wyjątkowo dobrej predyspozycji do kontynuowania badań naukowych, uważam, że osiągnięcie naukowe Pana dr. inż. Rafała Ważnego zatytułowane „Rola endofitów grzybowych w adaptacji roślin do środowiska” całkowicie spełnia wymogi stawiane w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Dlatego, stosownie do odpowiednich przepisów z art. 221 ust. 8 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) oraz §22 ust. 3 Procedury postępowania w sprawie nadawania stopni naukowych na Uniwersytecie Jagiellońskim (Załącznik do uchwały nr 51/V/2023 Senatu UJ z dnia 31 maja 2023 roku), przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne UJ wnioszek o nadanie Panu dr inż. Rafałowi Ważnemu stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Jacek Gascowski