

Puławy, dn. 23.03.2023 r.

dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB
Zakład Mikrobiologii Rolniczej

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Świecimskiej pt. „Promieniowce wyizolowane z gleb środowisk ekstremalnych i mało poznanych – różnorodność taksonomiczna i aktywność biologiczna”

Przedłożona do oceny praca doktorska Pani mgr Magdaleny Świecimskiej została wykonana w Katedrze Mikrobiologii na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem dr hab. Patrycji Golińskiej, prof. UMK jako promotora oraz dr Magdaleny Wypij jako promotora pomocniczego. Recenzję rozprawy doktorskiej przygotowano na prośbę Pani prof. dr hab. Justyny Rogalskiej Dziekana Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK w Toruniu.

1. Uwagi ogólne i znaczenie podjętej tematyki badań

Problematyka badawcza omawianej rozprawy doktorskiej dotyczy aktualnej tematyki oceny różnorodności taksonomicznej oraz aktywności biologicznej ważnej grupy mikroorganizmów jakimi są promieniowce.

Doktorantka podjęła się trudnej ale bardzo interesującej kwestii poszukiwania ważnych biotechnologicznie izolatów promieniowców. Obecnie wiele zespołów naukowych oraz firm farmaceutycznych poszukuje nowych związków bioaktywnych oraz nowych źródeł izolacji promieniowców oraz ich metabolitów o ciekawych strukturach i mechanizmach działania. Promieniowce izoluje się z bardzo wielu miejsc na Ziemi. Szczególną różnorodność promieniowców wykazują gleby urodzajne w wilgotnych strefach klimatycznych tropikalnych i subtropikalnych. Mniej promieniowców izoluje się z terenów suchych (piasków pustynnych) i miejsc o ostrym klimacie (ziem Antarktyki). Promieniowce mają zdolność dostosowywania się do warunków klimatycznych (wilgotności, nasłonecznienia oraz temperatury). Metabolity promieniowców były, są i będą obiektem

zainteresowań badaczy ze względu na oryginalność ich struktur chemicznych, a także ze względu na zróżnicowanie ich właściwości biologicznych i mechanizmów działania. Niestety tak dużą różnorodność strukturalną związków chemicznych trudno uzyskać w wyniku syntezy chemicznej w laboratorium. Metabolity wtórne promieniowców mogą być nie tylko potencjalnymi lekami, ale także posłużyć jako struktury modelowe do dalszych modyfikacji chemicznych, mających na celu poprawę ich właściwości biologicznych. Stąd też wszelkie próby podjęcia badań dotyczących poszukiwania nowych, aktywnych biotechnologicznie szczepów uważam za bardzo cenne i potrzebne w nauce. W ten nurt doskonale wpisuje się tematyka pracy doktorskiej mgr Magdaleny Świecimskiej.

Udział bakterii w kształtowaniu żyzności i zdrowotności gleby jest powszechnie znany, ponieważ to właśnie mikroorganizmy glebowe odgrywają główną rolę w mineralizacji materii organicznej, udostępnianiu roślinom składników pokarmowych, powstawaniu humusu glebowego, ograniczaniu patogenów i wielu innych. Uważam, że podjęta przez Doktorantkę analiza promieniowców nietypowych środowisk pozwala nie tylko na poznanie różnorodności tych mikroorganizmów, ale również dokładne określenie ich potencjału do wytwarzania nowych metabolitów wtórnych o ważnych właściwościach bioaktywnych. W powyższym kontekście problematyka ocenianej pracy doktorskiej ma znaczenie użyteczne i praktyczne ze względu na możliwości wdrażania osiągniętych wyników badań do praktyki. Recenzowana rozprawa doktorska opiera się na szeroko zaplanowanych, kompleksowych badaniach z użyciem szeregu analiz laboratoryjnych. Warte podkreślenia jest również to, że w recenzowanej dysertacji jasno i profesjonalnie przedstawiono wyniki badań będące efektem bardzo rzetelnego przeprowadzenia szeregu kompleksowych analiz.

Przedstawiona powyżej problematyka pracy dotyczy istotnych i aktualnych zagadnień związanych z ochroną i jakością środowiska glebowego, a w oparciu o uzyskane rezultaty bardzo wysoko oceniam istotność, trafność i aktualność podjętej tematyki badawczej.

2. Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Opiniowana rozprawa doktorska ma postać spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopiśmie naukowym, zgodnie z Ustawą o stopniach naukowych i

tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. art. 13 (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.), w związku z artykułem. 179 ust. 3 Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. i przepisach wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30 sierpnia 2018r. poz. 1669).

W skład rozprawy doktorskiej wchodzi siedem publikacji. Są to oryginalne prace naukowe. W pięciu z nich Doktorantka jest pierwszym autorem, a w dwóch drugim i trzecim autorem, co świadczy o Jej znaczącym udziale w powstawaniu tych prac. Do dokumentacji zostały także dołączone oświadczenia pozostałych autorów publikacji, potwierdzające znaczący udział Doktorantki w ich powstaniu. Zbiór publikacji stanowiących osiągnięcie stanowi spójne omówienie rezultatów badań zawartych w następujących publikacjach:

1. **Świecimska M**, Golińska P, Goodfellow M. Generation of a high quality library of bioactive filamentous actinomycetes from extreme biomes using a culture-based bioprospecting strategy. *Front Microbiol* 2022 (zaakceptowano 28.12.2022r.). Doi:10.3389/fmicb.2022.1054384. IF- 6,064, MNiSW- 100
2. Golińska P, Montero-Calasanz MDC, **Świecimska M**, Yaramis A, Igual JM, Bull AT, Goodfellow M. *Modestobacter excelsi* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from a high altitude Atacama Desert soil. *Syst Appl Microbiol* 2020; 43:126051. Doi: 10.1016/j.syapm.2019.126051. IF- 4,022, MNiSW- 100
3. Golińska P, **Świecimska M**, Montero-Calasanz MDC, Yaramis A, Igual JM, Bull AT, Goodfellow M. *Modestobacter altitudinis* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from Atacama Desert soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 2020; 70:3513-3527. Doi: 10.1099/ijsem.0.004212. IF- 2,747, MNiSW-70
4. **Świecimska M**, Golińska P, Nouioui I, Wypij M, Rai M, Sangal V, Goodfellow M. *Streptomyces alkaliterrae* sp. nov., isolated from an alkaline soil, and emended descriptions of *Streptomyces alkaliphilus*, *Streptomyces calidiresistens* and *Streptomyces durbertensis*. *Syst Appl Microbiol* 2020; 43:126153. Doi: 10.1016/j.syapm.2020.126153. IF- 4,022, MNiSW- 100
5. **Świecimska M**, Golińska P, Wypij M, Goodfellow M. Genomicbased classification of *Catenulispora pinisilvae* sp. nov., novel actinobacteria isolated from a pine forest soil in Poland and emended description of *Catenulispora rubra*. *Syst Appl Microbiol* 2021; 44:126164. Doi: 10.1016/j.syapm.2020.126164. IF- 4,064, MNiSW- 100

6. **Świecimska M**, Golińska P, Wypij M, Goodfellow M. *Catenulispora pinistramenti* sp. nov., novel actinobacteria isolated from pine forest soil in Poland. *Int J Syst Evol Microbiol* 2021; 71:5063. Doi: 10.1099/ijsem.0.005063. IF- 2,689, MNiSW- 70
7. **Świecimska M**, Golińska P, Goodfellow M. Genome-based classification of *Streptomyces pinistramenti* sp. nov., a novel actinomycete isolated from a pine forest soil in Poland with a focus on its biotechnological and ecological properties. *Antonie van Leeuwenhoek* 2022; 115:783-800. Doi: 10.1007/s10482-022-01734-8. F- 2,158, MNiSW-70.

Załączone do dysertacji publikacje zostały poprzedzone opracowaniem zawierającym następującą strukturę: Spis treści, Wykaz skrótów, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wstęp, Cel pracy i hipotezy badawcze, Materiały i metody. Na końcu dysertacji zamieszczono rozdziały: Dyskusja i podsumowanie uzyskanych wyników, Wnioski, Literatura oraz *Curriculum Vitae*.

Sumaryczny Impact Factor publikacji stanowiących zbiór artykułów według roku publikacji wynosi **25.766**, zaś liczba punktów wg wykazu MEiN wynosi **610**. Są to zatem bardzo dobre wskaźniki i dowodzą, że oryginalne publikacje twórcze stanowią istotną i bardzo wartościową część rozprawy doktorskiej. Wszystkie prace są współautorskie, a wkład Kandydatki w ich powstanie jest znaczący. Świadczy to o dojrzałości naukowej Doktorantki oraz potwierdza Jej kluczową rolę na wszystkich etapach powstawania rozprawy. Udział Doktorantki w opracowaniu tych publikacji polegał m.in. na przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, oznaczeniach mikrobiologicznych, opracowaniu statystycznym wyników badań, opracowaniu przeglądu literatury i przygotowaniu manuskryptów. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że wyniki badań stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej ukazały się drukiem w renomowanych czasopismach, takich jak: *Frontiers in Microbiology*, *Systematic and Applied Microbiology*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* oraz *Antonie van Leeuwenhoek*. Do dokumentacji zostały dołączone oświadczenia o udziale Doktorantki oraz współautorów publikacji. Z oświadczeń wynika, że wkład Doktorantki był istotny, zarówno w wykonaniu części eksperymentalnej, jak i opracowaniu i interpretacji wyników.

3. Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Pierwszy rozdział pracy doktorskiej zatytułowany „Wstęp” to piętnastostronicowy opis tematyki przedmiotu wprowadzający czytelnika w zakres prowadzonych badań. Doktorantka precyzyjnie przedstawia najważniejsze zagadnienia dotyczące charakterystyki promieniowców, ich taksonomii oraz izolacji z różnych środowisk, w tym ekstremalnych (alkalicznych, kwaśnych, alkalifilnych i acidofilnych). Doktorantka izolowała promieniowce z gleby ale w tym miejscu prosiłabym o wyjaśnienie roli promieniowców jako bakterii endofitycznych.

Kolejny rozdział dysertacji to „Cel pracy i hipotezy badawcze”, w którym Doktorantka przedstawia cel główny pracy oraz cztery główne i słusznie postawione hipotezy badawcze. W mojej opinii cel badań oraz hipotezy badawcze zostały poprawnie zaplanowane a w toku realizacji badań Doktoranta uzyskała wyniki dające na nie odpowiedź. Co ważne na końcu dysertacji Doktorantka jasno i precyzyjnie weryfikuje postawione wcześniej hipotezy badawcze. Weryfikację hipotezy badawczej poparto otrzymanymi na kolejnych etapach badań wynikami.

Kolejny rozdział „Materiały i metody” obejmuje opis materiału badawczego oraz metodyk, które zostały wykorzystane w przedstawionych publikacjach składających się na rozprawę doktorską. Na szczególne podkreślenie zasługuje odpowiedni dobór nowoczesnych metod i technik badawczych, które pozwoliły na precyzyjne ich przeprowadzenie i weryfikację otrzymanych wyników. Doktorantka bardzo dokładnie opisuje wykorzystane w toku prowadzenia badań metody, w tym analizy taksonomiczne i aktywności biologicznej izolatów, tj. analizę sekwencji powtarzalnych BOX techniką PCR (BOX-PCR), ocenę właściwości fenotypowych promieniowców, analizy chemotaksonomiczne, oznaczenia cukrów komórkowych, izomeru kwasu diaminopimelinowego, oznaczenia profilu chinonów izoprenoidowych oraz lipidów polarnych, analizy morfologiczne zarodników i strzępek zarodnikonośnych oraz badania właściwości fizjologicznych z wykorzystaniem klasycznej metody hodowlanej i właściwości biochemiczne i degradacyjne szczepów.

W rozdziale „Dyskusja i podsumowanie uzyskanych wyników” Doktorantka opisuje w sposób syntetyczny rezultaty badań przedstawione w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Rezultaty badań zostały bardzo dobrze

uzasadnione i porównane z danymi z literatury. Doktorantka szczegółowo omawia najistotniejsze wyniki dotyczące oceny różnorodności taksonomicznej i aktywności biologicznej badanych izolatów. Ponadto w sposób bardzo jasny opisuje w tym rozdziale otrzymane wyniki i precyzyjnie odnosi je do poszczególnych publikacji stanowiących spójny cykl całości prowadzonych badań.

Bardzo wysoko oceniam dobór miejsc izolacji promieniowców. Wybór tak charakterystycznych i unikatowych miejsc izolacji (silnie wysuszone gleby pustyni Atakama w Chile, alkaliczne i zasolone gleby jeziora Lonar w Indiach oraz kwaśne gleby z północnego i południowego stoku wydmy śródlądowej w lesie sosnowym) przyczynił się do otrzymania bardzo ciekawych pod kątem biotechnologicznym oraz potencjalnie nowych gatunków promieniowców. Z kolekcji 226 izolatów Doktorantka słusznie wybrała metodą dereplikacji 115 szczepów do dalszych szczegółowych badań. Kandydatka potwierdziła, że wśród analizowanych promieniowców dominował rodzaj *Streptomyces*, niezależnie od źródła izolacji. Pozostałe szczepy z pustyni Atakama należały do rodzajów *Modestobacter*, *Pseudonocardia*, *Kribbella* i *Micromonospora*; z krateru Lonar do rodzaju *Nocardiopsis* natomiast z gleb wydmy śródlądowej do rodzajów *Streptacidiphilus*, *Actinacidiphila*, *Catenulispora*, *Kitasatospora* i *Pilimelia* (stok N) oraz *Pilimelia*, *Actinacidiphila*, *Nocardia*, *Actinospica* i *Streptacidiphilus* (stok S). Doktorantka potwierdziła, że około 24% izolatów wykazywało podobieństwo sekwencji genu 16S rRNA z najbliższymi spokrewnionymi gatunkami na poziomie $\leq 99\%$ wskazując, że mogą one być rozważane jako potencjalnie nowe gatunki rodzajów *Actinacidiphila*, *Actinospica*, *Kribbella*, *Nocardia*, *Nocardiopsis*, *Pilimelia*, *Pseudonocardia*, *Streptacidiphilus* oraz *Streptomyces*. W toku przeprowadzonych badań Doktorantka zaobserwowała, że większą aktywność przeciwdrobnoustrojową promieniowców wobec bakterii Gram-dodatnich i *C. albicans* niż bakterii Gram-ujemnych. W tym miejscu chciałabym zapytać czym można wytłumaczyć znacznie niższą aktywność przeciwdrobnoustrojową badanych promieniowców wobec właśnie bakterii Gram-ujemnych? Bardzo ciekawe wyniki Doktorantka otrzymała w kontekście badań izolatu NH11T zidentyfikowanego jako nowy gatunek z rodzaju *Catenulispora* (*C. pinisilvae*). Izolat ten wykazywał aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec Gram-dodatnich szczepów dzikich (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* i *Staphylococcus aureus*) wyizolowanych od pacjentów niewykazujących objawów chorobowych (strefy

zahamowania wzrostu od 6-10 mm). Silną strefę zahamowania wzrostu bakterii Gram-dodatnich (12-14,3 mm) wykazywały także izolaty z kwaśnej gleby leśnej oraz z pustyni Atakama. Czy planuje Pani dalsze badania nad tym izolatem w kontekście jego potencjału biotechnologicznego? Ponadto bardzo obiecujące wyniki Doktorantka przedstawiła w kontekście oceny aktywności hydrolitycznej promieniowców i ich potencjał do promowania wzrostu roślin. Izolaty pozyskane ze wszystkich środowisk wytwarzały celulazy, chitynazy, lipazy i proteiny, ale aktywność pektynaz odnotowano głównie wśród szczepów izolowanych z gleb pustyni Atakama. Wśród zbadanych promieniowców 76,5% wytwarzało lipazy, 64,3% ureazy i 61,7% proteazy. Wśród 115 badanych promieniowców zdolność do produkcji sideroforów Doktorantka zaobserwowała u 50,4% szczepów, a amoniaku u 39,1% izolatów. Które z badanych aktywności hydrolitycznych uważa Pani za najbardziej cenne w kontekście późniejszego zastosowania tych szczepów jako biopreparatów do promowania wzrostu i rozwoju roślin? Za bardzo cenny wkład w powstanie osiągnięcia oceniam także dobór metod i analiz w celu potwierdzenia nowych gatunków promieniowców ze środowisk ekstremalnych i mało poznanych, w szczególności promieniowców z rodzaju *Modestobacter*, *Streptomyces* oraz *Catenulispora*. Doktorantka uzyskała także bardzo ciekawe wyniki dotyczące analizy genomów nowych gatunków promieniowców, w tym genów stresu związane z przystosowaniem promieniowców do życia w ekstremalnym lub nietypowym środowisku oraz biosyntetycznych klastrów genowych (BGCs) kodujących metabolity wtórne.

Kolejny rozdział rozprawy stanowią „Wnioski”, w którym Doktorantka sformułowała osiem wniosków odpowiadających na cel badań. Rozdział ten Doktorantka zakończyła podsumowaniem otrzymanych wyników badań oraz syntetyczną weryfikacją postawionych wcześniej hipotez.

Na końcu dysertacji znajduje się starannie przygotowany spis literatury obejmujący najważniejsze i trafnie dobrane pozycje literaturowe z zakresu przedmiotu badań (193 pozycje, w tym tylko dwie w języku polskim).

Konkludując ocenę merytoryczną rozprawy doktorskiej stwierdzam, że publikacje składające się na dysertację powstały na podbudowie bardzo dobrej i spójnej koncepcji badań. Zostały starannie opracowane i dostosowane do wymagań czasopism. Wszystkie badania zostały wykonane poprawnie pod względem metodycznym. Wyniki badań są

oryginalne. Zostały one poprawnie opracowane statystycznie i dobrze zilustrowane. Wnoszą nowe wartości do mikrobiologii gleb a tym samym poszerzają wiedzę z dziedziny biologii. Doktorantka udowodniła, że posiada wiedzę teoretyczną do właściwej oceny otrzymanych wyników badań. Pani mgr Magdalena Świecimska udowodniła także, że posiada umiejętność syntetycznego opisywania i właściwego analizowania otrzymanych wyników oraz problematyki badawczej zaprezentowanej w zbiorze publikacji, którą zatytułowała „*Promieniowce wyizolowane z gleb środowisk ekstremalnych i mało poznanych - różnorodność taksonomiczna i aktywność biologiczna*”. Bardzo dobrze zaprojektowane doświadczenia, oryginalna koncepcja badań, szeroki wachlarz precyzyjnych i nowoczesnych metod badawczych oraz odpowiednie przygotowanie Doktorantki umożliwiło osiągnięcie wielu cennych i wartościowych wyników.

4. Wniosek końcowy

Podsumowując przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i potwierdza szeroką wiedzę teoretyczną Pani mgr Magdaleny Świecimskiej. Jednocześnie stanowi **kompleksowe i spójne opracowanie** dotyczące oceny różnorodności taksonomicznej i aktywności biologicznej promieniowców wyizolowanych z gleb środowisk ekstremalnych i mało poznanych.

Doktorantka dowiodła, iż posiada wiedzę w powyższej tematyce, jak również potrafi zaplanować i właściwie przeprowadzić badania metodyczne związane z powyższą tematyką. Moim zdaniem sformułowany problem badawczy został w pełni osiągnięty. Lektura dysertacji oraz oryginalnych publikacji naukowych wchodzących w jej skład robi bardzo dobre wrażenie. Wykorzystany przez Doktorantkę warsztat naukowo-badawczy jest bardzo szeroki, a uzyskane wyniki umożliwiły osiągnięcie zakładanego na wstępie celu pracy. Praca nie budzi zastrzeżeń pod względem formalnym i merytorycznym. Na uznanie zasługuje bardzo dobrze przemyślany plan badań i dobór odpowiednich metod badawczych, w tym także nowoczesnych metod badawczych z zakresu biologii molekularnej i oceny różnicowania taksonomicznego oraz metabolicznego badanych izolatów.

W świetle powyższej oceny, rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Świecimskiej spełnia warunki wymagane Ustawą z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003r. Nr 65 poz. 595 z

późn.zm.), w związku z artykułem. 179 ust. 3 Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. i przepisach wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30 sierpnia 2018r. poz. 1669) i wnioskuje do Wysokiej Rady w Dyscyplinie Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o jej dopuszczenie do publicznej obrony.

Jednocześnie ze względu na duże walory poznawcze i aplikacyjne otrzymanych wyników badań oraz zwracając szczególną uwagę na aktualność i trafność problematyki badawczej oraz wyróżniający się poziom merytoryczny pracy wykonanej przy zastosowaniu nowoczesnych metod i narzędzi badawczych, wnoszę wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Świecimskiej stosowną nagrodą. W mojej ocenie wartość dysertacji podnoszą także oryginalne wyniki badań opublikowane w renomowanych czasopismach z listy JCR, w których Doktorantka ma znaczący udział i jest pierwszym autorem.



dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB

Jednostka organizacyjna IUNG-PIB Zakład Mikrobiologii Rolniczej
Osoba do kontaktu: dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB
Telefon: 814786950
Adres e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl