

UNIwersytet Gdański



Prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn
Katedra Biologii Molekularnej
Wydział Biologii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk

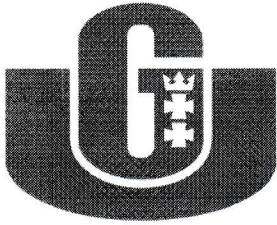
Tel. (58) 523 6024 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 6025 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 5501 (Kierownik Katedry)
e-mail: joanna.bart@biol.ug.edu.pl (Sekretariat)
e-mail: grzegorz.wegrzyn@biol.ug.edu.pl (Kierownik Katedry)
www.biology.ug.edu.pl/kbm

Gdańsk, 17 lipca 2019 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pani magister Pauliny Marjańskiej
pt. „Filogeneza i zmienność genomowa przedstawicieli *Bacillus cereus sensu stricto* z gleb Eurazji, Afryki i Ameryki Południowej”**

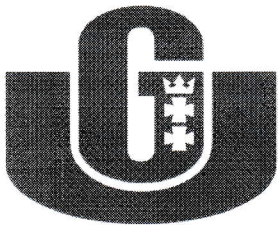
Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Pauliny Marjańskiej dotyczy molekularnych analiz genetycznych i genomicznych w aspekcie zmienności i filogenezy izolatów *Bacillus cereus sensu stricto* pochodzących z bardzo różnych stref geograficznych. Analizowane bakterie zostały wyizolowane z próbek gleb z Polski, Kazachstanu, Kenii i Argentyny. O ile analizy tego typu jak przedstawione w ocenianej pracy były wcześniej publikowane w literaturze, to wyjątkowością rozprawy doktorskiej Pani mgr Pauliny Marjańskiej jest zróżnicowanie geograficzne badanych szczepów i przeprowadzenie analiz mogących wskazać na poziom zmienności genetycznej *B. cereus* w skali ogólnoswiatowej. Praca została wykonana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Izabeli Świącickiej, która ma ogromne doświadczenie i znakomity dorobek z zakresu badań nad bakteriami z rodzaju *Bacillus*, w tym analiz genetycznych i genomicznych. Doktorantka znalazła zatem znakomite warunki do realizacji ambitnych planów badawczych.

Badania przeprowadzone zostały na szeroką skalę, a biorąc pod uwagę nie tylko zakres przeprowadzonych prac, lecz także zróżnicowanie geograficzne izolatów bakterii, prawdopodobnie na największą do tej pory skalę na świecie. Analizy genetyczne i genomiczne, w tym analizy filogenetyczne, zostały przeprowadzone z zastosowaniem nowoczesnych metod i technik, do których nie mam zastrzeżeń – może jedynie pewną uwagę dotyczącą liczebności badanych izolatów. Mianowicie w Tabeli 9 podane są liczby izolatów *B. cereus* poddanych badaniom, w tym badaniom polimorfizmu genetycznego, struktury



populacji i filogenezy. W badaniach tego typu optymalne byłoby poddanie różnym analizom takiej samej liczby izolatów z różnych rejonów geograficznych. Tymczasem liczby te w przypadku tej pracy wynoszą 200, 199, 211 i 103 odpowiednio dla Argentyny, Kazachstanu, Kenii i Polski, jeśli chodzi o ogólne analizy, natomiast 23, 46, 42 i 50, odpowiednio dla tych krajów, w przypadku badań polimorfizmu genetycznego, struktury populacji i filogenezy. Dlaczego zatem w tych przypadkach Autorka zdecydowała się poddać analizom około dwukrotnie mniejsze liczby izolatów z Polski (pierwszy rodzaj analiz) i Argentyny (drugi rodzaj analiz) niż dla wszystkich pozostałych krajów? Problemy wynikające z takiego podejścia doświadczalnego widać chociażby w przypadku wyników zamieszczonych na Ryc. 2, gdzie badano ilościowy rozkład alleli genów metabolizmu podstawowego wśród izolatów *B. cereus*. Doświadczenia takie są bardzo cenne, ale są wiarygodne i dające możliwości jednoznacznej interpretacji wyników jedynie wtedy, gdy analizie poddawana jest taka sama liczba izolatów z każdego badanego miejsca, co nie ma miejsca w tym przypadku. Prosiłbym zatem Doktorantkę o ustosunkowanie się do tych problemów podczas obrony pracy doktorskiej.

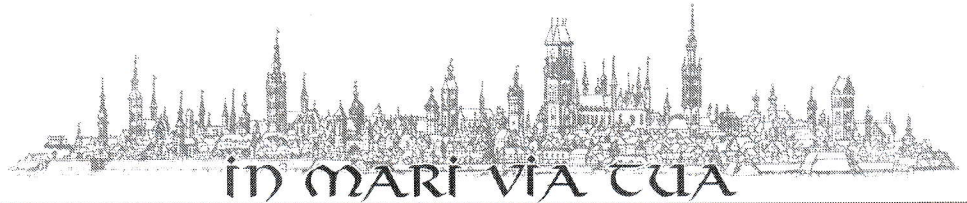
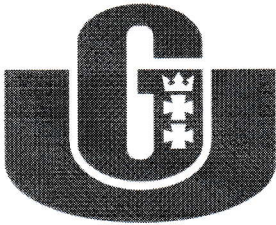
Uzyskane wyniki pozwoliły na wyciągnięcie ważnych naukowo wniosków. Za najważniejsze z nich uważam niżej wymienione. Po pierwsze Pani mgr Paulina Marjańska wykazała wysoki poziom polimorfizmu genetycznego niezależnie od pochodzenia izolatów *B. cereus*. Po drugie, uzyskane wyniki sugerują, że populacje tej bakterii podlegają selekcji negatywnej o charakterze okresowym. Po trzecie, przeprowadzone analizy wykazały, że populacje *B. cereus* charakteryzuje ekotypowy charakter o zróżnicowanej liczebności subpopulacji. Po czwarte wreszcie, Doktorantka wykazała, że komórki *B. cereus* zawierają plazmidy typu pXO1 lub pXO2. Wszystkie te wnioski są istotne i stanowią ważny wkład w rozwój mikrobiologii środowiskowej. Uzyskane wyniki są dojrzałe przedyskutowane przez Panią mgr Paulinę Marjańską. Co ważne, w Dyskusji odnosi się ona nie tylko do innych, wcześniej opublikowanych badań nad strukturą genetyczną *B. cereus* ale także do analogicznych prac dotyczących innych gatunków bakterii, co pozwala na analizę uzyskanych przez nią wyników w znacznie szerszym świetle.



Sama rozprawa doktorska Pani mgr Pauliny Marjańskiej ma typowy układ dla dysertacji z zakresu nauk biologicznych pisanych w „tradycyjny” sposób. Streszczenie dobrze przedstawia najważniejsze osiągnięcia pracy i zachęca do zapoznania się z całą jej treścią. Rozdział pt. „Wstęp” jest stosunkowo krótki, ale stanowi dobre merytoryczne wprowadzenie do kolejnych rozdziałów rozprawy. Do tej części pracy mam jedno zastrzeżenie. Moją wątpliwość wzbudziło bowiem następujące zdanie (str. 18): *„Jednym z czynników, oprócz m.in. rekombinacji i mutacji, wpływających na kompozycję nukleotydową chromosomu bakteryjnego, jest oddziaływanie czynników środowiskowych”*. Oczywiście zgadzam się, że czynniki środowiskowe mogą wpływać na zmienność genetyczną, czyli zmiany w sekwencji nukleotydowej DNA. Niemniej jednak, wszystkie te czynniki wpływają na kompozycję nukleotydową poprzez indukowanie rekombinacji lub powstawanie mutacji. Nie są zatem niczym działającym „oprócz” rekombinacji i mutacji, a tylko je stymulującym.

Przy okazji lektury „Wstępu” mam kilka uwag redakcyjnych które odnoszą się także do dalszych rozdziałów rozprawy. Mimo że język pracy jest ogólnie poprawny, to Autorce nie udało się uniknąć pewnych nieprawidłowych sformułowań. Przykładem jest chociażby ostatnie zdanie ze str. 17, w którym czytamy: *„genów kodowanych na chromosomach”*. Otóż geny nie są kodowane, bo to geny kodują białka bądź funkcjonalne cząsteczki RNA. Natomiast geny mogą być położone na chromosomach.

Skoro mowa o nieprawidłowościach językowych, to nie mogę pominąć sformułowania, które pojawia się w wielu miejscach tej rozprawy (m.in. str. 17, 19, 29, 39, 73, 89). Mianowicie Autorka używa określenia „i/lub”. W języku polskim określenie to nie ma logicznego sensu. Koniunkcja „i” oznacza bowiem konieczność spełnienia obu z podanych w zdaniu warunków, zaś alternatywa nierozłączna „lub” oznacza że może być spełniony jeden warunek bądź oba. Zatem określenie „i/lub” nie ma sensu, gdyż „i” zawiera się już w „lub”. Można by co prawda użyć określenia „i/albo”, czyli połączenia koniunkcji i alternatywy rozłącznej (tzn. spełnienia tylko jednego z dwóch warunków, ale nie obu razem), ale nie ma takiej potrzeby, gdyż „i/albo” oznacza dokładnie to samo co „lub”. Trzeba podkreślić, że w języku polskim słowa „lub” oraz „albo” mają inne znaczenie logiczne (odpowiednio: alternatywa nierozłączna i alternatywa rozłączna).



Prawdopodobnie określenie „i/lub” wzięło się bezpośrednio z prostego tłumaczenia z języka angielskiego zwrotu „and/or”. Ale w języku angielskim nie ma odpowiednika słowa „lub”. Słowo „and” jest odpowiednikiem „i”, zaś słowo „or” jest odpowiednikiem „albo”. Zatem aby po angielsku powiedzieć „lub” trzeba użyć określenia „and/or”. Natomiast nie ma takiej konieczności w języku polskim, gdyż określenie „i/albo” oznacza dokładnie to samo co „lub”, zaś „i/lub” nie ma logicznego sensu, bo przecież równie nielogiczne byłoby sformułowanie „*Bacillus*/bakterie”, gdzie znaczenie jednego słowa mieści się w znaczeniu drugiego. Muszę nadmienić, że opisana powyżej niezręczność językowa jest obecnie bardzo powszechna i można ją spotkać w wielu tekstach drukowanych, co nie zmienia faktu, że jest to nieprawidłowość logiczna.

Bardzo dobrze opisane są kolejne rozdziały rozprawy doktorskiej Pani mgr Pauliny Marjańskiej, w której przedstawione są użyte materiały, zastosowane metody, uzyskane wyniki i ich dyskusja w świetle wcześniejszych danych literaturowych, o czym pisałem powyżej.

W podsumowaniu uważam, że Pani mgr Paulina Marjańska wykazała się wiedzą teoretyczną z zakresu prowadzonych przez siebie badań. Udowodniła, że potrafi rozwiązać problem naukowy poprzez odpowiednie zaplanowanie badań, wykonanie doświadczeń oraz interpretację ich wyników. Uzyskała istotne naukowo rezultaty doświadczeń, poprawnie je opisała i wyciągnęła uprawnione wnioski. Stwierdzam zatem, że spełnione zostały warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym, wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pani mgr Pauliny Marjańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę bardzo ambitny i ważny temat badań, duży zakres wykonanych prac, bardzo dobre zaplanowanie doświadczeń i ich wykonanie, a także bardzo dobre opisanie i przedstawienie wyników, poparte prawidłową analizą danych oraz wyciągnięciem poprawnych wniosków, potwierdzających ich duże znaczenie naukowe, wnoszę o stosowne wyróżnienie tej rozprawy doktorskiej.