

Prof. dr hab. Tomasz Mieczan
Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Dobrzańskiego 37, 20-262 Lublin
tel. 81461-00-61 wewn. 304, 305
e-mail: tomasz.mieczan@up.lublin.pl

Lublin, 26.06.2023

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Kowalika pt. „**Bakteriocenozy mat mikrobialnych strefy proglacjalnej Lodowca Ekologii (Wyspa Króla Jerzego, Antarktyka) - struktura taksonomiczna i potencjał fizjologiczny**”
(Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie)

Mgr Jakub Kowalik realizował pracę doktorską w ramach programu
"Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich w zakresie Biologii i
Biotechnologii (POWR.03.05.00-00-Z310/17) ufundowanego przez Europejski
Fundusz Społeczny”

Uwaga ogólna (zasadność wyboru tematu). Zasadniczą wartość nadaje rozprawie obiekt badań jakim są bakteriocenozy mat mikrobialnych ekosystemów polarnych, o wiele rzadziej badane we współczesnej mikrobiologii niż inne zespoły mikroorganizmów. Prezentowane wyniki stanowią kompleksowe opracowanie dotyczące zespołów bakterii mat mikrobialnych na obszarze Morskiej Antarktyki. Większość dotychczasowych badań nad zespołami bakterii to prace taksonomiczne. Przedłożona do recenzji praca doktorska, uwzględniająca wpływ parametrów fizyczno-chemicznych na występowanie bakteriocenoz mat mikrobialnych, w powiązaniu z analizą potencjału metabolicznego izolatów, określeniem ich potencjału środowiskowego, odporności na antybiotyki oraz odporności na zamarzanie i promieniowanie UV, należy więc do nielicznych wyjątków w literaturze dotyczącej charakterystyki mat mikrobialnych. Badania realizowane były na obszarze Wyspy Króla Jerzego w różnego typu siedliskach, w tym: zbiornikach astatycznych, ciekach o zróżnicowanej genezie oraz glebach. Podstawową hipotezą badawczą pracy było oczekiwanie, że maty mikrobialne rozwijają się jako wyspecjalizowane strukturalnie i funkcjonalnie ekosystemy, a tworzące je bakteriocenozy charakteryzują się wysokim potencjałem fizjologicznym i środowiskowym. W

ekosystemach polarnych, pomiędzy bakteriocenozą mat mikrobialnych i gleb istnieje zależność strukturalna. Bakteriocenoza gleby stanowi pierwotny mikrobiom, który w procesie migracji i kolonizacji środowisk wodnych zasila strukturę bentosowych mat mikrobialnych. Zgodnie z hipotezą Baas-Beckinga czynniki środowiskowe, fizykochemiczne i hydrologiczne, decydują o strukturze taksonomicznej mat mikrobialnych i ich potencjale fizjologiczno-metabolicznym.

Biorąc pod uwagę nasilające się zmiany klimatyczne, w tym wzrost temperatury, deglacjację obszarów polarnych oraz zmiany warunków hydrologicznych, poznanie czynników wpływających na funkcjonowanie zespołów bakteriocenozy mat mikrobialnych w obszarach proglacialnych, a więc powstałych w wyniku intensyfikacji procesów deglacjacji wydaje się szczególnie pilne. Dlatego uważam, że tematyka podjęta w rozprawie doktorskiej jest bardzo ważna i niezwykle aktualna.

Ocena merytoryczna i walory poznawcze. Treść rozprawy składa się ze streszczenia w językach polskim i angielskim oraz z siedmiu ułożonych hierarchicznie rozdziałów: *Wstęp, Cel badań, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Piśmiennictwo*. Najciekawszymi z nich są podrozdziały dotyczące potencjału środowiskowego szczepów bakterii mat mikrobialnych, odporności na promieniowanie UVB oraz oddziaływań antagonistycznych. Recenzowana rozprawa liczy 166 stron tekstu, 21 tabel, 71 rycin oraz 13 fotografii – które w rozprawie podpisano jako ryciny. Tabele i ryciny zostały starannie wykonane i właściwie dobrane do treści poszczególnych rozdziałów pracy. Rozprawa jest wartościowa pod względem merytorycznym, jej treść oparta została na bardzo bogatych materiałach fizykochemicznych i mikrobiologicznych. Metody badań są poprawne i logicznie zastosowane, co pozwoliło na pełną realizację postawionych w pracy założeń badawczych. Szczególnie zastosowanie zaawansowanych technik analiz molekularnych oraz metod statystycznych umożliwiło określenie roli poszczególnych czynników środowiskowych w funkcjonowaniu zespołów bakteriocenozy.

Do najważniejszych obserwacji i wniosków, które dostarcza rozprawa doktorska mgr Jakuba Kowalika zaliczam:

- kompleksową charakterystykę na podstawie analizy metagenomicznej bakteriocenozy, w tym wykazanie występowania bakterii należących do 12 typów, wśród których dominującą rolę w strukturze mat odgrywają sinice. Wskazuje to na autotroficzny charakter tych zespołów mikrobialnych. W matach cieków i zbiorników stagnujących znaczący udział w strukturze taksonomicznej miały także bakterie należące do typu Proteobacteria (należy podkreślić, że

jest to pierwsze tak kompleksowe opracowanie tego zagadnienia na obszarze Wyspy Króla Jerzego),

- wykazanie wyższego bogactwa taksonomicznego bakterii w matach rozwijających się w zbiornikach astatycznych, charakteryzujących się wyższą koncentracją materii organicznej i mineralnej oraz potwierdzenie hipotezy Baas-Beckinga wskazującej na rolę czynników środowiskowych w selekcji komponentów biotycznych mat mikrobialnych,
- wykazanie istotnej zależności strukturalnej pomiędzy bakteriocenozy mat i gleb,
- wykazanie, że bakterie należące do Chitinophagaceae występują liczniej w glebach skolonizowanych przez *Deschampsia antarctica* oraz *Colobanthus quitensis*,
- wykazanie, że bakterie występujące w matach mikrobialnych charakteryzuje wysoka aktywność fizjologiczna i szeroki potencjał metaboliczny, umożliwiający wykorzystanie różnorodnych dostępnych substratów, co decyduje o efektywnym rozwoju mat mikrobialnych w oligotroficznym warunkach środowiskowych,
- wykazanie, że reakcje antagonistyczne oraz zdolność do adhezji stanowią cechy wyróżniające bakteriocenozy mat mikrobialnych. Oba typy oddziaływań mają decydujące znaczenie w kształtowaniu struktury biotycznej badanych ekosystemów,
- wykazanie, że bakteriocenozy mat cechuje szeroka oporność na antybiotyki. Wskazuje to na występowanie efektywnych mechanizmów kształtujących naturalną oraz nabytą oporność. Na ogromne uznanie zasługuje utworzenie banku szczepów pochodzących z mat mikrobialnych, który stanowi niezwykle cenny materiał do dalszych badań podstawowych i aplikacyjnych.

W moim przekonaniu, walory te potwierdzają wysoką wartość poznawczą rozprawy mgr Jakuba Kowalika.

Uwagi i propozycje zmian. Podczas czytania rozprawy nasunęły mi się pewne uwagi i wątpliwości. Pozwalam sobie je wymienić, wyrażając przekonanie, że zostaną one raz jeszcze przemyślane i uwzględnione przed oddaniem pracy do druku. Jednocześnie podkreślam, że moje uwagi nie mają wpływu na ogólną ocenę wyrażoną w końcowej części rozprawy.

- we *Wstępie* Autor nadmiernie skupia się na „wiedzy książkowej/podstawowej” – charakteryzuje Kontynent Antarktyczny, podaje bardzo ogólne informacje dotyczące stacji badawczych itp. – informacje te powinny zostać umieszczone w rozdziale *Teren badań*, brakuje tutaj także wyraźnego uzasadnienia podjęcia tematu w oparciu o literaturę światową, szczególnie w pierwszej części tego rozdziału,
- na stronie 16 Doktorant wskazuje, że „*śródlądowe środowiska wodne charakteryzują się bardzo niską trofią*”. Nawet w obszarach polarnych nie jest to regułą, bowiem bardzo często

niewielkie zbiorniki wodne mają charakter eutroficzny, a nawet hypertroficzny. Często wykorzystywane są m.in. przez petrele i wydrzyki, jak również zasilane są odchodami pingwinów i słoń morskich. Tak dzieje się właśnie w zbiornikach zlokalizowanych przy Stacji Polarnej „Arctowski”,

- W rozdziale *Cel badań* Doktorant wskazuje, że do osiągnięcia celu głównego wyznaczono cele szczegółowe, którymi były np. metagenomiczna analiza taksonomiczna bakteriocenoz mat mikrobialnych w odniesieniu do struktury bakteriocenozy gleb, izolacja z mat mikrobialnych i molekularna identyfikacja heterotroficznych szczepów bakterii; utworzenie banku szczepów, fenotypowy „finger printing”; analiza potencjału fizjologicznego szczepów bakterii itp. – to są raczej metody służące osiągnięciu założonego celu,

- w rozdziale *Materiał i metody badań* – podrozdział *Charakterystyka badanych mat mikrobialnych* Doktorant charakteryzuje metodę badań mat mikrobialnych – proszę o doprecyzowanie jakie filtry wzbudzające wykorzystywano do tych analiz,

- w rozdziale *Materiał i metody badań* – podrozdział *Analizy fizyczne i chemiczne wody i gleby* str. 44 Doktorant wskazuje, że „pozostałe analizy wody i gleby wykonano w kraju zgodnie ze standardowymi procedurami” – tzn. jakimi?, brakuje tutaj charakterystyki wykorzystanych metod analitycznych lub odniesienia do literatury,

- w Tabeli 6 – jednostki przy poszczególnych parametrach powinny być zapisane w indeksie górnym, czy przy fosforanach chodzi o ortofosforan?

- proszę o doprecyzowanie jakie czynniki hydrologiczne były analizowane i jaki miały one wpływ na bakteriocenozy mat mikrobialnych?

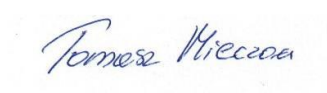
- w rozdziale dyskusja Doktorant wskazuje, że „Zasadniczymi czynnikami, skorelowanymi ze strukturą taksonomiczną badanych mat były właściwości fizykochemiczne środowisk wodnych, w których się rozwijają” – proszę o doprecyzowanie o jakie czynniki chodzi,

- w niektórych fragmentach pracy znajdują się niedoprecyzowane stwierdzenia, jak chociażby takie: „dla badanych szczepów polarnych” – str. 41, „badania rdzeniowe” – str. 128, w całym tekście pojawia się zwrot „badania polarne” – raczej badania ekosystemów polarnych lub środowisk polarnych,

- Doktorant w wielu fragmentach dyskusji wskazuje, że badania mikrobiocenoz środowisk polarnych są przedmiotem licznych badań naukowych lub że przeprowadzono dotychczas wiele badań w tym zakresie itp. W pierwszej chwili nasuwa się więc pytanie po co prowadzono badania zawarte w dysertacji? Myślę, że niepotrzebna jest tutaj nadmierna skromność Doktoranta albo stosowanie takich uogólnień, o których wspomniałem powyżej, bowiem badania bakteriocenoz mat mikrobialnych w obszarach ulegających deglacjacji na

Wyspie Króla Jerzego w tak szerokim zakresie nie były prowadzone. Są więc one nowatorskie i stanowią istotne osiągnięcie Doktoranta.

Uwaga końcowa. Problematykę rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Kowalika uważam za bardzo ciekawą, aktualną naukowo i unikatową, albowiem jest ona bardzo rzadko podejmowana przez innych badaczy w tak szerokim zakresie. Dlatego też opisane wyniki i przedstawione wnioski w tej rozprawie są bardzo ważne naukowo i wzbogacają wiedzę o szereg obserwacji o istotnym znaczeniu dla nauk podstawowych z jednoczesnym dużym potencjałem ich praktycznego wykorzystania w aplikacjach biotechnologicznych oraz jako czuły wskaźnik globalnych zmian klimatu w obszarach polarnych. Tak szeroki zakres podjętych badań bez wątpienia wymagał dużego zaangażowania Doktoranta. Stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2023.742 ze zm.) i wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny nauki biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr Jakuba Kowalika do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych.



Lublin, dn. 26.06.2023

Prof. dr hab. Tomasz Mieczan