

prof. dr hab. inż. Joanna Puławska
Instytut Ogrodnictwa - PIB
Zakład Ochrony Roślin
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3
96-100 Skierniewice

Skierniewice 2.12.2024

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Magdaleny Smoktunowicz
„Kompleksowa charakterystyka, genomika porównawcza i profilowanie
metaboliczne wybranych gatunków z rodzaju *Pectobacterium* pod kątem
potencjalnych zastosowań biomedycznych”**

Podstawa opracowania recenzji

Niniejsza recenzja została przygotowana na zlecenie Rady Nauk Farmaceutycznych GUMed (pismo prof. dr. hab. Krzysztofa Cała z dnia 7.10.2024), która uchwałą nr 40/2024 z dnia 04 października 2024 powołała mnie na recenzentkę rozprawy doktorskiej mgr M. Smoktunowicz.

Przedstawiona do recenzji praca wykonana w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydziału Farmaceutycznego, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem dr. hab. Krzysztofa Walerona jako promotora i dr hab. Renaty Wawrzyniak jako promotorki pomocniczej. Rozprawa dotyczy kompleksowej charakterystyki wybranych gatunków z rodzaju *Pectobacterium* z zastosowaniem genomiki porównawczej i profilowania metabolicznego. Bakterie z rodzaju *Pectobacterium* powodują wiele chorób roślin uprawnych należących do różnych gatunków. W większości są polifagami i mają szeroką gamę roślin żywicieli. W uprawach niektórych roślin np. ziemniaków, marchwi prowadzą do poważnych strat ekonomicznych, które nie mogą być skutecznie ograniczane przez zastosowanie środków ochrony roślin, ze względu na ich bardzo ograniczony asortyment w ochronie roślin przed bakteriozami. W związku z dużą plastycznością genomów, która ułatwia im adaptację do różnych środowisk można je znaleźć również w układzie pokarmowym człowieka. Badania

ostatnich lat wykazały, że bakterie z rodzaju *Pectobacterium* są jednymi z pierwszych zasiedlających jelita.

Przedstawiona do recenzji praca ma formę opublikowanych artykułów naukowych. Na rozprawę doktorską Pani mgr Magdaleny Smoktunowicz składają się cztery wieloautorskie oryginalne prace naukowe opublikowane w latach 2022-2024. Anglojęzyczne prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych posiadających współczynnik wpływu IF (Impact Factor) o wartościach IF 3,3; 4,1; 4,1 i 4 (sumaryczny IF = 15,5). Doktorantka jest pierwszym autorem dwóch prac, drugim autorem w trzeciej pracy, a w czwartej pracy jest szóstym autorem. Zgodnie z oświadczeniem jej wkład w powstanie publikacji, w których była pierwszym autorem (praca A i D) polegała na koncepcji i planowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu eksperymentów, analizie uzyskanych danych oraz udziale w przygotowaniu manuskryptu. W pracy C, w której jest drugim autorem i pracy B, gdzie jest szóstym autorem prowadziła eksperymenty mikrobiologiczne i molekularne.

Główna część pracy doktorskiej składająca się z opublikowanych artykułów naukowych poprzedzona jest streszczeniem w języku polskim i w języku angielskim, obszernym rozdziałem **Wprowadzenie**, w którym autorka wyszczególniła 4 główne podrozdziały obejmujące przegląd literatury dotyczący charakterystyki rodzaju *Pectobacterium*, zagadnień dotyczących genomiki i metabolomiki oraz potencjalnego zastosowania bakterii z rodzaju *Pectobacterium* w badaniach biomedycznych. Rozdział ten jest bardzo dobrym wprowadzeniem do pracy, zawiera szczegółowy opis stanu wiedzy w tym zakresie a Doktorantka wykorzystwała do jego przygotowania 107 pozycji literaturowych. Są to publikacje w zdecydowanej większości anglojęzyczne, obejmujące głównie prace opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych. Przegląd jest napisany przejrzystym językiem i mógłby stanowić odrębną pracę przeglądową. Następnie Autorka wyszczególniła główny **Cel Pracy**, który miał być osiągnięty przez realizację czterech etapów badawczych. W tej części pracy, zwłaszcza po tak dogłębnym przestudiowaniu literatury naukowej, brakuje hipotez badawczych, które podczas realizacji doświadczeń Doktorantka mogłaby zweryfikować.

Kolejny rozdział to **Część doświadczalna**, w której zamieszczono kopie 4 publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Każda z tych publikacji została poprzedzona streszczeniem w języku polskim. Pierwsza praca (Praca A) dotyczy ryzyka przenoszenia patogenicznych bakterii z roślinami warzywnymi i ozdobnymi, w dobie intensywnego handlu międzynarodowego materiałem roślinnym. W toku pracy, izolowano pektynolityczne bakterie

ze 108 bezobjawowych prób warzyw i 65 roślin ozdobnych. Szczepy identyfikowano do poziomu gatunku, określono ich zróżnicowanie genetyczne oraz wybrane cechy fenotypowe. Badania te wykazały, że szczepy *Pectobacterium* posiadają wysoki potencjał adaptacyjny do niesprzyjających warunków środowiska i zdolność do porażania wielu gatunków roślin, co sprzyja ich rozprzestrzenianiu.

Kolejna praca (Praca B) koncentrowała się na analizach genomów, ocenie fizjologicznej oraz określeniu wirulencji wybranych szczepów bakterii z gatunku *Pectobacterium cacticida*, który posiada duży potencjał rozprzestrzeniania się i stanowi problem w uprawach roślin ogrodniczych. Badania wykazały, że szczepy stanowią zróżnicowaną genetycznie grupę i zaproponowano przeklasyfikowanie *P. cacticida* do nowoutworzonego rodzaju i gatunku *Alcorniella cacticida*. Jest to praca, która bez wątplenia znacząco przyczyniła się do poznania zróżnicowania w obrębie rodzaju *Pectobacterium*, a analiza genomowa pozwoliła na określenie unikalnych genów dla tej grupy bakterii, które najprawdopodobniej odgrywają rolę w ich przeżywalności i wirulencji oraz wyodrębnienie nowego taksonu. Doktorantka poprzedziła pracę streszczeniem w języku polskim, jednak brakuje w nim informacji dotyczącej właśnie utworzenia nowego gatunku i w związku z tym moje pytanie czy brakuje tej informacji omyłkowo, czy Autorka celowo jej nie dodała?

Trzecia publikacja (Praca C) poświęcona była zróżnicowaniu szczepów *Pectobacterium betavascularum*, gatunku głównie znanego jako patogen buraków, jednak o znacznie szerszym spektrum roślin-gospodarzy. Kompleksowa charakterystyka patogenomiczna i fenogenomiczna wykazała dużą plastyczność metaboliczną tych bakterii, co pozwala im na przystosowanie się do różnych nisz ekologicznych. Szczepy przystosowane do roślin o wysokiej zawartości cukru w tkankach mają inny skład kwasów tłuszczowych w membranach i inny mechanizm uzupełniania azotu w przypadku niedoboru tego związku niż szczepy pochodzące z innych gatunków roślin. Obszerne analizy wykazały, że gatunek *P. betavascularum* jest patogenem znacznie bardziej istotnym z punktu widzenia agronomicznego niż dotychczas sądzono.

Ostatnia publikacja (Praca D) jest kontynuacją badań nad gatunkiem *P. betavascularum* tym razem z zastosowaniem nieukierunkowanej analizy metabolomicznej. Badania dostarczyły informacji na temat szlaków metabolicznych aktywnych podczas degradacji ksylozy i sacharozy. Zaobserwowano, że różne szlaki metaboliczne są indukowane w obecności ksylozy w porównaniu do sacharozy. Obecność ksylozy zwiększa pozakomórkowy metabolizm cukrów i glicerolu, a także stymuluje syntezę EPS i IPS. Natomiast w obecności sacharozy promowany

jest intensywny pozakomórkowy metabolizm amin i aminokwasów. Doktorantka używa w polskim streszczeniu i również w części „Podsumowanie wyników” niewłaściwej nazwy choroby powodowanej przez *P. betavascularum* na buraku. Nie jest to martwica buraka ale bakteryjna zgorzel naczyniowa buraka zgodnie z opracowaniem „Polskie nazwy chorób roślin uprawnych” pod kierunkiem Z. Boreckiego i M. Schollenberger.

Podsumowanie wyników badań to kolejny rozdział, w którym Doktorantka podsumowuje uzyskane wyniki z każdej z czterech prac wchodzących w skład rozprawy. Polskojęzyczną część rozprawy zamyka rozdział **Wnioski**, który obejmuje 10 głównych punktów. Moje zastrzeżenia budzi ich treść ponieważ część z nich ma charakter raczej podsumowania otrzymanych wyników niż wyciągniętych z nich wniosków, więc lepiej byłoby nazwać ten rozdział „Podsumowanie i wnioski”.

Praca jest uzupełniona o spis literatury oraz Addendę z wykazami stosowanych skrótów, zaprezentowanych tabel i rycin, oświadczeniami współautorów prac w zakresie udziału każdego z nich w powstaniu publikacji oraz dorobku mgr M. Smoktunowicz – listę oryginalnych prac oraz monografii naukowych niewchodzących w skład rozprawy doktorskiej, doniesień konferencyjnych, szkoleń, w których Doktorantka brała udział i uzyskanych wyróżnień.

Strona językowa i edytorska pracy ogólnie nie budzi zastrzeżeń, chociaż w każdym tego typu opracowaniu nie sposób uniknąć pewnych drobnych błędów (przedstawionych poniżej), które nie umniejszają wartości pracy, ale częściowo mogą być wykorzystane w dalszych etapach pracy naukowej i publikacji wyników badań.

We Wprowadzeniu:

- rozdział 4.1.1. (str. 15) - geny housekeeping to w polskim tłumaczeniu najczęściej geny metabolizmu podstawowego;

- błąd w numeracji stron – są dwa zestawy stron o numeracji 26-32;

- rozdział 4.2 str. 30 stwierdzenie: „w którym znaleziono wspólny pojedynczy prążek wytwarzany przez wszystkie szczepy *P. carotavorum* i *P. wasabie*” jest tzw. slangiem laboratoryjnym. Bakterie nie wytwarzają prążków, tutaj chodzi o produkt amplifikacji DNA danego szczepu lub szczepów;

- zgodnie ze „Słownikiem fitopatologicznym” autorstwa S. Kryczyńskiego, M. Mańki i P. Sobiczewskiego prawidłowym terminem określającym stopień patogeniczności lub zdolność do zakażenia danego genotypu roślin to wirulencja, a nie zjadliwość, którego to terminu używa Doktorantka;

- stwierdzenie „Zaletami AFLP jest wykrywanie większej różnorodności genetycznej niż przy użyciu innych markerów” – różnorodność genetyczna bakterii jest cechą stałą dla danego izolatu, tu chodzi o większą czułość w wykrywaniu zmian w materiale genetycznym z zastosowaniem danej techniki;

- str. 51 stwierdzenie „rodzaj *Burkholderia* jest toksyczny dla roślin” – powinno być bakterie z rodzaju *Burkholderia* są patogeniczne dla roślin.

W Części doświadczalnej:

- str. 108 jest „W przypadku odmian pochodzących z karczocha i słonecznika ...” zamiast słowa odmian powinno być użyte słowo szczepów lub izolatów,

Podczas lektury publikacji nasunęły mi się pewne pytania, na które chętnie uzyskałabym odpowiedź Doktorantki podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej:

1. Czy nowy gatunek *Alcorniella cacticida* opisany w pracy B został już gatunkiem zwalidowanym?
2. Co wiadomo na temat przynależności gatunkowej, zróżnicowania oraz genomów bakterii z rodzaju *Pectobacterium* wchodzących w skład mikrobioty jelitowej?

Podsumowując, przedstawioną do recenzji pracę oceniam bardzo dobrze. Uważam, że rozprawa doktorska mgr M. Smoktunowicz stanowi dobrze zaplanowaną i zrealizowaną pracę badawczą. Za szczególnie cenne uważam wieloaspektową analizę i charakterystykę szczepów z rodzaju *Pectobacterium* należących do różnych gatunków i pochodzących z różnych środowisk. Bardzo cennymi są wyciągnięte z badań wnioski podkreślające cechy bakterii zwiększające ich potencjał do zasiedlania jelit.

Konkludując, uważam, że przedstawiona do oceny praca odpowiada warunkom stawianym rozprawom doktorskim. Wnoszę zatem do Rady Nauk Farmaceutycznych GUMed w Gdańsku o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Smoktunowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. inż. Joanna Puławska

