



**Uniwersytet Medyczny w Białymstoku**  
**Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej i Inżynierii**  
**Nanobiomedycznej**

ul. Mickiewicza 2C, 15-089 Białystok, Poland  
tel. +48 85 748 54 15, fax +48 85 748 54 16

Białystok, 2020-07-12

**Ocena**

rozprawy doktorskiej Pani mgr Angeliki Fiodor pt. „**Aktywność chitynolityczna a przynależność filogenetyczna wybranych przedstawicieli *Bacillus cereus sensu lato***” wykonanej pod kierunkiem Pani Prof. dr hab. Izabeli Święcickiej w Katedrze Mikrobiologii i Biotechnologii Wydziału Biologii Uniwersytetu w Białymstoku.

Bakterie odgrywają kluczową rolę w degradacji biopolimerów odnawialnych, takich jak celuloza, hemiceluloza, lignina i chityna, do prostych oligomerów czy cukrów monomerycznych. Spośród tych związków chityna jest niezwykle wartościowym biopolimerem, drugim po celulozie pod względem występowania w przyrodzie. Stanowi ona główny składnik ścian komórkowych grzybów, egzoszkieletów stawonogów, powłok nicieni, a także muszli mięczaków. Występuje głównie w kompleksach z białkami lub innymi polisacharydami. Ponieważ chityna dla wielu mikroorganizmów heterotroficznych jest głównym źródłem węgla oraz azotu, liczne bakterie wykształciły system enzymatyczny złożony z chitynaz oraz białek wiążących chitynę, który hydrolizuje ten polimer. Chitynazy są obecnie przedmiotem dużego zainteresowania w dziedzinie nauk o środowisku, medycynie i biotechnologii. Charakter chitynaz bakteryjnych zależy od środowiska bytowania mikroorganizmów dowodząc, że odgrywają one także kluczową rolę w ewolucji mikroorganizmów. Enzymy syntetyzowane przez tlenowe laseczki *Bacillus cereus sensu lato*, powszechnie występujące w glebie, są niezwykle wydajne w degradacji chityny. W związku z powyższym, wiodąca hipoteza badawcza rozprawy doktorskiej Pani mgr Angeliki Fiodor zakłada, że naturalne środowisko wpływa na te bakterie, co może przejawiać się na poziomie genomu oraz fenotypu różnicami garnituru enzymatycznego odpowiedzialnego za rozkład chityny. Doktorantka założyła, że izolaty chitynolityczne *Bacillus cereus sensu lato* grupują się zgodnie z przynależnością filogenetyczną. Autorka słusznie zwraca uwagę, że badanie

właściwości chitynolitycznych oraz ustalenie ich źródeł było wcześniej bardzo rzadko podejmowane w grupie *Bacillus cereus sensu lato*, poza szczepami należącymi do *Bacillus thuringiensis*.

Rozprawa doktorska Pani mgr Angeliki Fiodor zredagowana została na 115 stronach standardowego maszynopisu według typowego, powszechnie akceptowanego układu, który obejmuje: wykaz skrótów, spis tabel, spis rycin, streszczenie, wstęp, cele badawcze i hipotezy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie i wnioski oraz bibliografie i załączniki. Autorka zamieściła stosunkowo obszerny wykaz skrótów, pomocny w dalszej lekturze rozprawy, po którym zgodnie z wymogami formalnymi, przedstawione zostały streszczenia w języku polskim i angielskim. We wstępie, stanowiącym doskonale wprowadzenie do zagadnień pracy, Doktorantka przedstawiła w sposób zwięzły i przejrzysty między innymi zagadnienia dotyczące właściwości chitynolitycznych bakterii, jak również znaczenie bakteryjnych enzymów chitynolitycznych w życiu człowieka. Zwróciła także uwagę na filogenezę *Bacillus cereus sensu lato* w oparciu o najnowsze metody biologii molekularnej. Przy omawianiu ekotypów bakteryjnych podkreśliła możliwość wykorzystania chitynaz bakteryjnych w tzw. zielonej biotechnologii jako biopestycydów do zwalczania grzybów oraz owadów, a także w przemyśle do produkcji oligo- i monomerów N-acetylo-D-glukozaminy. Ta część pracy została opracowana bardzo starannie w oparciu o aktualne piśmiennictwo.

W oparciu o przesłanki zawarte we wstępie Doktorantka sformułowała cele badań obejmujące analizę aktywności chitynolitycznej wybranych izolatów *Bacillus cereus sensu lato* pochodzących z różnych środowisk północno-wschodniej Polski w połączeniu z identyfikacją genów odpowiedzialnych za rozkład chityny i ustaleniem pozycji filogenetycznej badanych izolatów. Dla zrealizowania postawionych celów Doktorantka przeprowadziła analizę rozkładu chityny koloidalnej. Określiła także typ aktywności chitynolitycznej, sekwencję nukleotydową genów kodujących chitynazy i zbadała poziom ich ekspresji. Sposób zaplanowania doświadczeń oraz ich realizacja świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu metodycznym Doktorantki. Wynika ono również z długotrwałej pracy i kompetencji w obszarze prowadzonych badań promotora, Pani Prof. dr. hab. Izabeli Świącickiej.

Dyskusja przeprowadzona przez Autorkę jest prowadzona bardzo dojrzałe. Doktorantka umiejętnie odniosła własne wyniki do dostępnych danych literaturowych, a sposób przeprowadzenia analizy uzyskanych wyników potwierdza bardzo dobre

przygotowanie merytoryczne i szeroką wiedzę w zakresie tematyki prowadzonych badań. Ze względu na ogromną różnorodność chitynaz dotyczącą zarówno ich filogenezy, budowy strukturalnej oraz różnych funkcji jest to bez wątpienia temat interesujący, a jednocześnie wymagający usystematyzowania. Wobec rosnącej ilości informacji na temat zaangażowania chitynaz w proces zapalny, a także w proces włóknienia tkanek, interesującym uzupełnieniem tej części rozprawy mogłoby być poznanie opinii Doktorantki na temat wykorzystania chitynaz jak i inhibitorów tych enzymów w medycynie praktycznej.

Przeprowadzone badania stały się podstawą do sformułowania przez Autorkę trzech logicznych wniosków, których treść upoważnia do stwierdzenia, że 1) zdolność *Bacillus cereus sensu lato* do rozkładu chityny jest powszechną cechą tych laseczek tlenowych wynikającą z ekspresji mRNA genów *chiA* i *chiB*, kodujących chitynazę A i chitynazę B, przy czym obie wykazują charakter chitobiozydazy i endochitynazy; 2) szczepy *Bacillus cereus sensu lato* o właściwościach chitolitycznych grupują się w analizie filogenetycznej na podstawie genu metabolizmu podstawowego *panC*, jednakże wielkość aktywności chitobiozydazy i endochitonazy oraz względny poziom ekspresji mRNA genów *chiA* i *chiB* nie zależą od pochodzenia ani przynależności filogenetycznej oraz gatunkowej badanych bakterii; 3) występowanie zjawiska chitynolityczności u glebowych populacji *Bacillus cereus sensu lato* jest związane z przynależnością filogenetyczną badanych bakterii oraz ich pochodzeniem, zatem możliwe jest wyznaczenie ekotypu chitynolitycznego.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Angeliki Fiodor charakteryzuje się trafnością wyboru tematu. Doktorantka wykazała się umiejętnością wykorzystania dostępnej bibliografii oraz formułowania celów planowanych badań naukowych i wniosków z nich wypływających. Zawarta w rozprawie analiza zagadnienia jest spójna i przyczynia się do lepszego poznania omawianej tematyki, toteż jest cennym uzupełnieniem dostępnego piśmiennictwa naukowego. Autorka w pełni zrealizowała zaplanowany cel, dobrze opanowała niełatwy warsztat badawczy i wykazała doskonale przygotowanie merytoryczne. Rozprawa ma dużą wartość poznawczą i stanowi podstawę do kontynuowania badań naukowych w tej dziedzinie.

Stwierdzam, że przedłożona do recenzji praca autorstwa Pani mgr Angeliki Fiodor spełnia wszystkie warunki określone w art. 13. ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. Poz. 1789). Tym samym zwracam się do Rady Dyscypliny

Nauki Biologiczne Uniwersytetu w Białymstoku o dopuszczenie Pani magister Angeliki Fiodor do dalszych etapów przewodu doktorskiego. W mojej ocenie wartość merytoryczna rozprawy upoważnia do zgłoszenia wniosku o wyróżnienie pracy „*summa cum laude*” ze względu na nowatorski charakter tematyki przeprowadzonych badań, znakomity plan doświadczeń i przejrzystość analizy uzyskanych wyników.



prof. dr hab. med. Robert Bucki