

Prof. dr hab. Monika Janczarek
Katedra Genetyki i Mikrobiologii
Instytut Nauk Biologicznych
Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin
mon.jan@poczta.umcs.lublin.pl

Ocena

**osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego,
z uwzględnieniem współpracy naukowej i popularyzacji nauki
dr. Marcina Gołębińskiego w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauk
biologicznych**

1. Podstawa prawna i ocena formalna

Decyzją Rady Naukowej w dyscyplinie nauk biologicznych na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu z dnia 17 stycznia 2020 r. zostałam powołana w skład Komisji habilitacyjnej dr. Marcina Gołębińskiego. Do oceny w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego otrzymałam następujące materiały w wersji papierowej i elektronicznej:

- 1) wniosek o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego
- 2) kopię dyplomu doktora nauk biologicznych
- 3) autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych w języku polskim i angielskim
- 4) wykaz opublikowanych prac naukowych
- 5) informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki
- 6) kopie prac stanowiących jednotematyczny cykl publikacji pt. „**Masywne sekwencjonowanie amplikonów genów małej podjednostki rybosomu jako metoda analizy zbiorowisk mikroorganizmów w środowisku**” wskazane jako osiągnięcie naukowe
- 7) oświadczenia współautorów o indywidualnym wkładzie w prace wskazane jako osiągnięcie naukowe
- 8) dane kontaktowe
- 9) nośnik elektroniczny zawierający całość dokumentacji.

Przedstawione materiały są kompletne i spełniają wymogi formalne. W dokumentacji dr Marcin Gołębiński przedstawił całokształt swojego dorobku naukowego oraz sumaryczne dane bibliometryczne, które umożliwiły przygotowanie oceny i zajęcie stanowiska w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

2. Sylwetka Kandydata i przebieg kariery naukowej

Dr Marcin Gołębiowski ukończył studia na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego w 1999 r., uzyskując tytuł magistra biologii, specjalność biologia molekularna. Stopień doktora nauk biologicznych, specjalność biochemia uzyskał w 2005 r. w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Complete nucleotide sequence of pCTX-M3 plasmid and analysis of its genes responsible for conjugational transfer”, której promotorem był prof. Jacek Bardowski. W latach 2005-2006 mgr Marcin Gołębiowski był zatrudniony jako asystent w Zakładzie Biotechnologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika (UMK) w Toruniu, a od 2006 r. pracuje jako adiunkt w Katedrze Fizjologii Roślin i Biotechnologii UMK. Przez rok (2011) był również zatrudniony jako bioinformatyk w Instytucie Oceanologii PAN w Sopocie.

3. Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe dr. Marcina Gołębiowskiego pt. „**Masywne sekwencjonowanie amplikonów genów małej podjednostki rybosomu jako metoda analizy zbiorowisk mikroorganizmów w środowisku**” obejmuje cztery współautorskie prace (trzy oryginalne prace i jedną pracę przeglądową) opublikowane w latach 2014-2019 w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR). Sumaryczny współczynnik oddziaływania tych prac (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi **IF = 12,152**, liczba punktów MNiSW (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi **240**; (zgodnie z rokiem opublikowania, ale bez uwzględnienia nowej punktacji - 135). Liczba cytowań prac wg Web of Science wynosi 100, indeks Hirsch'a 10 (stan na 06.09.2019). Habilitant jest pierwszym autorem we wszystkich tych publikacjach. Z oświadczeń Kandydata wynika, że Jego wkład w przeprowadzenie badań zawartych w tych pracach jest dominujący i wynosi od 90% do 45%. Współautorzy publikacji w oświadczeniach załączonych do wniosku potwierdzili wiodący udział dr. Marcina Gołębiowskiego w realizacji opisanych badań i powstaniu tych prac oraz określili zakres swojego uczestnictwa w przygotowaniu poszczególnych artykułów.

W skład osiągnięcia naukowego Kandydata włączone zostały następujące prace:

1. **Gołębiowski M**, Deja-Sikora E, Cichosz M, Tretyn A, Wróbel B. **2014**. 16S rDNA pyrosequencing analysis of bacterial community in heavy-metals polluted soils. *Microb Ecol*, 67(3): 635-647. doi: 10.1007/s00248-013-0344-7. IF2014=2,973, punkty MNiSW2014 = 35;
2. **Gołębiowski M**, Całkiewicz J, Creer S, Piwosz K. **2017**. Tideless estuaries in brackish seas as a possible freshwater-marine transition zones for bacteria – the case study of the Vistula estuary. *Env Microbiol Rep*, 9(2): 129-143. doi: 10.1111/1758-2229.12509. IF2016=2,885, punkty MNiSW2016= 35;
3. **Gołębiowski M**, Tarasek A, Sikora M, Deja-Sikora E, Tretyn A, Niklińska M. **2019**. Rapid successional changes during initial stages of pine litter decomposition. *Microb Ecol*, 77(1): 56-75. doi: 10.1007/s00248-018-1209-x. IF2016=3,611, punkty MNiSW2016=35, MNiSW2019= 100;

4. **Gołębiewski M, Tretyn A. 2019.** Generating amplicon reads for microbial community assessment with next generation sequencing. *J Appl Microbiol*, doi: 10.1111/jam.14380. IF2016=2,683, punkty MNiSW2016= 30, MNiSW2019= 70.

Osiągnięcie naukowe Kandydata zawiera cztery tematycznie ze sobą powiązane prace, które dotyczą optymalizacji metody masywnego sekwencjonowania (NGS) z użyciem markerów genetycznych 16S i 18S rRNA w celu zastosowania jej do charakterystyki genetycznej populacji mikroorganizmów występujących w różnych środowiskach. W czasach rozwoju technik „omicznych” podjęcie tego zagadnienia przez Habilitanta wydaje się jak najbardziej zasadne i przydatne w badaniu ekologii mikroorganizmów. Opracowanie skutecznych metod sekwencjonowania całych metagenomów powinno przyczynić się w przyszłości do lepszej charakterystyki genetycznej zbiorowisk mikroorganizmów pochodzących z różnych nisz ekologicznych bez potrzeby ich wcześniejszej hodowli laboratoryjnej. Jest to bardzo istotne, gdyż szacuje się, iż tylko niewielka część mikroorganizmów z danego środowiska (0,1-10%) daje się hodować w warunkach laboratoryjnych i jest możliwe ich badanie tradycyjnymi metodami mikrobiologicznymi.

W publikacji przeglądowej (**J Appl Microbiol, 2019**) Habilitant opisał różne strategie stosowane podczas sekwencjonowania ampliconów genów markerowych oraz czynniki mogące wpływać na uzyskiwane wyniki tych analiz. Są to m.in.: wybór genu markerowego i jego konserwatywnych lub zmiennych regionów, stosowane startery, rodzaj analizy (analiza genów na poziomie DNA lub ich poziomu ekspresji w oparciu o RNA) oraz analiza bioinformatyczna. Kandydat podkreślił, iż metodologia analiz bioinformatycznych częściowo jest determinowana przez technologię sekwencjonowania i wybór genu markerowego, a prawidłowe dopasowanie sekwencji uzyskanych w NGS wpływa na konstrukcję Operacyjnych Jednostek Taksonomicznych (Operational Taxonomical Units - OTUs), co przekłada się na wyniki oszacowania ich różnorodności, jak też przypisanie danemu OTU najbardziej prawdopodobnej pozycji taksonomicznej.

Metodologia masywnego sekwencjonowania (NGS) została wykorzystana przez Habilitanta do ustalenia wpływu wybranych czynników środowiskowych na populację mikroorganizmów bytujących w różnych niszach. W pierwszej pracy eksperymentalnej (**Microb Ecol, 2019**) dr Marcin Gołębiewski badał wpływ metali ciężkich na różnorodność populacji mikroorganizmów w zanieczyszczonych glebach z okolic Olkusza i Alwerii w oparciu o sekwencjonowanie ampliconów fragmentu V3-V4 genu 16S rRNA, uzyskanych na matrycy DNA metagenomowego. Habilitant opracował ulepszoną wersję primera B786r, dzięki któremu udało się efektywnie uzyskać sekwencje 16S rDNA dla ponad 90% bakterii obecnych w bazie SILVA.

Za najważniejsze wyniki zawarte w tej publikacji uważam opracowanie metodologii uśredniania macierzy OTU, co umożliwi lepsze oszacowanie różnorodności oraz podanie uszczegółowionej definicji tzw. „podstawowego mikrobiomu” (ang. „core microbiome”) jako zestawu organizmów pełniących najistotniejszą rolę w badanych zbiorowiskach ustaloną nie tylko na podstawie ich powszechności, ale również wtedy gdy stanowią one podobną frakcję zbiorowiska we wszystkich badanych próbkach. Ma to szczególne znaczenie w przypadku, kiedy liczba sekwencji na próbkę nie jest wysoka. Habilitant wykazał, że w badanych glebach

stężenie jonów cynku było najistotniejszym czynnikiem wpływającym na różnorodność bakterii, jak i na strukturę populacji. Natomiast inne metale (Cd i Pb) nie wpływały istotnie na badane parametry. Jednak uzyskane wyniki w mojej opinii były spowodowane dużą różnicą stężeń i toksyczności poszczególnych metali, jak również niedużej liczby badanych próbek gleby, stąd trudno o wyciągnięcie bardziej ogólnych wniosków w tej kwestii. Ale fakt, że praca ta została do dziś zacytowana ponad 90 razy (WoS, stan na 9.09.2019) świadczy o istotności tego zagadnienia.

W drugiej pracy eksperymentalnej (**Env Microbiol Rep, 2017**) Habilitant przeprowadził analizę porównawczą populacji bakterii w estuarium Wisły na podstawie sekwencji amplikonów 16S rDNA uzyskanych z bibliotek cDNA, które otrzymano w oparciu o całkowity RNA wyizolowany z pobranych prób. Badaniom poddano trzy strefy zasolenia: wody rzeczne (0 PSU), strefę mieszania (3-4 PSU) i wody Zatoki Gdańskiej (7-8 PSU) podczas czterech pór roku. Badania te były prowadzone we współpracy z Morskim Instytutem Rybackim w Gdyni. Habilitant w tej pracy udoskonalił metodologię obróbki bioinformatycznej uzyskanych odczytów (m.in. opracował metodologię pozwalającą na wykrywanie jednonukleotydowych różnic między sekwencjami odczytów), co pozwoliło obniżyć częstość błędów i skonstruować tzw. subOTU, przy użyciu progu podobieństwa 99% z sekwencji składających się na standardowe OTU uzyskane przy użyciu progu podobieństwa 97%.

Do najważniejszych osiągnięć tej pracy uważam wykazanie, że zasolenie i sezonowość są istotnymi czynnikami wpływającymi na profil populacji bakterii w tych środowiskach, a wpływ zbiorowisk wód Wisły na wody Zatoki Gdańskiej jest zależny od pory roku (jest największy zimą, a najmniejszy latem). Innym cennym spostrzeżeniem było ustalenie, że różnorodność bakterii nie jest zgodna z krzywą Remane (tzn. nie jest najniższa w strefie mieszania wód), co sugeruje, że wzorce alfa i beta różnorodności mikroorganizmów determinowane są przez inne czynniki niż w przypadku makroorganizmów.

W trzeciej pracy doświadczalnej (**Microb Ecol, 2019**) Habilitant poddał analizie metagenomicznej ściółkę leśną. Środowisko leśne stanowi ważny element środowisk lądowych, gdyż lasy zajmują niemal jedną trzecią powierzchni lądów. Głównym celem tej pracy było określenie składu zbiorowisk mikroorganizmów i zmiany ich profilu w czasie podczas pierwszych stadiów rozkładu ściółki sosnowej. Dekompozycja zachodząca w ściółce leśnej jest istotnym procesem wpływającym na równowagę między węglem uwalnianym do atmosfery, a immobilizowanym. W pracy tej scharakteryzowano zbiorowiska mikro- i makroorganizmów w próbkach wystandaryzowanej ściółki sosnowej inkubowanej w lesie przez okres 8 miesięcy w oparciu o sekwencjonowanie genów 16S i 18S rRNA, jak też pokazano zmianę ich liczebności w czasie przy użyciu techniki qPCR.

Do interesujących obserwacji poczynionych przez Habilitanta zaliczam wykazanie, że zmiany zbiorowisk bakterii i organizmów eukariotycznych były szybkie i zgodne z opisanym wcześniej modelem rozkładu ściółki, w którym organizmy bytujące w fyllosferze są szybko zastępowane przez inne przystosowane do kolejnych etapów rozkładu. Ponadto, Kandydat ustalił, że czynnikami istotnie wpływającymi na zbiorowiska bakterii są Zn i Na, zaś stosunek C/N oraz obecność Zn i Mn istotnie wpływają na zbiorowiska Eukariontów. Co interesujące, nie stwierdzono obecności Archaea w badanych próbkach. W omawianej pracy Habilitant

rozwinął metodologię analiz ekologicznych, stosując po raz pierwszy metodę analizy korespondencji (Ter Braak i Schaffers, 2004) do określenia wpływu populacji bakteryjnej na zbiorowisko organizmów eukariotycznych i vice versa. Badania te były prowadzone we współpracy z Instytutem Nauk o Środowisku UJ.

Podsumowując, Habilitant wykorzystując metodę maszynowego sekwencjonowania amplikonów genów małej podjednostki rybosomu (16S i 18S rRNA) scharakteryzował zbiorowiska mikroorganizmów w trzech odmiennych środowiskach (gleba zawierająca metale ciężkie, wody o różnym stopniu zasolenia oraz ściółka sosnowa o różnym stopniu dekompozycji). Zastanawiający jest wybór takiego typu środowisk do analiz populacyjnych mikroorganizmów. W swoim autoreferacie Habilitant nie wskazał jaki był klucz doboru takich środowisk. Wątpliwości budzi również brak wyraźnego uzasadnienia dlaczego w jednych badaniach prowadzono analizy, bazując na całkowitym DNA wyizolowanym z próbek (gleba i ściółka), a w innych analizach stosowano całkowite RNA, a nie DNA (wody Wisły/Bałyku). Pomimo tych uwag, uważam że chociaż dorobek naukowy dr. Marcina Gołębińskiego prezentowany w osiągnięciu nie jest imponujący (zawiera jedynie trzy publikacje doświadczalne), to jest wystarczający do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

4. Ocena pozostałego dorobku naukowego

Dr Marcin Gołębiński, oprócz prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, posiada znaczący pozostały dorobek naukowy. W okresie po uzyskaniu stopnia doktora Habilitant opublikował 18 prac, w tym 17 prac w czasopiśmie znajdujących się w bazie JCR (Jego udział w powstaniu tych prac wynosi od 45% do 5%). Sumaryczny współczynnik oddziaływania tych prac (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi **IF – 54,398, pkt MNiSW - 798** (zgodnie z rokiem opublikowania) (573 wg punktacji z roku wydania pracy). Sumaryczny IF wszystkich prac (łącznie z osiągnięciem naukowym) wynosi **67.668**, liczba cytowań tych prac (z wykluczeniem autocytowań) wg bazy Web of Science **462**. Habilitant jest również współautorem licznych posterów prezentowanych na konferencjach międzynarodowych i krajowych. Dane te wskazują, że umiejętności metodyczne Habilitanta związane z maszynowym sekwencjonowaniem są doceniane przez innych naukowców i stosowane z powodzeniem w różnych modelach badawczych. Dr M. Gołębiński oprócz analiz zbiorowisk mikroorganizmów zajmował się również tematyką związaną z wpływem różnych czynników środowiskowych na transkryptom roślin. Do analizy genetycznej zbiorowisk mikroorganizmów w różnych środowiskach Habilitant wykorzystywał opracowane przez siebie startery specyficzne do genów 16S i 18S rRNA, które umożliwiały szybkie i łatwe przygotowanie setek bibliotek amplikonów do sekwencjonowania w technologii Illumina na aparacie MiSeq. Dr M. Gołębiński uczestniczył w bardzo ciekawych badaniach, których celem była charakterystyka bakteryjnego i grzybowego mikrobiomu *Salicornia europaea* (Appl Environ Microbiol, 2019), jak również określenie wpływu zasolenia na mikrobiom korzenia *Alnus glutinosa* (Front Microbiol, 2018) czy metali ciężkich na zróżnicowanie mikroorganizmów w glebach leśnych (Appl Soil Ecol, 2013).

W ostatnim czasie Habilitant rozszerzył obszar swoich badań o charakterystykę transkryptomu buraka zwyczajnego (*Beta vulgaris*). Badano wpływ zasolenia na zmianę

ekspresji genów tej rośliny i zidentyfikowano geny zaangażowane w odpowiedź na ten czynnik stresowy (Plant Sci, 2016).

W tym miejscu chciałabym podkreślić uzyskanie przez Habilitanta wysokonakładowego grantu pt. „BETAMIKRO – mikrobiom buraka zwyczajnego i jego interakcje z rośliną” oraz objęcie funkcji kierownika Zespołu Genomiki Funkcjonalnej w Badaniach Biomedycznych i Jego udział w organizacji laboratoriów w Instytucie ICNT UMK. Uzyskanie finansowania tego projektu przez dr. M. Gołębińskiego jako kierownika umożliwi mu prowadzenie badań interdyscyplinarnych w tej tematyce.

Na uwagę zasługuje również duża aktywność Habilitanta w realizacji projektów naukowych finansowanych ze źródeł zewnętrznych (MNiSW, NCN oraz POIG). Kandydat uczestniczył dotychczas w 10 projektach naukowych, w tym w jednym w charakterze kierownika oraz w dziewięciu jako wykonawca. Tym samym Habilitant wykazał się aktywnością naukową w obszarze współpracy z naukowcami, zarówno ze swojej macierzystej jednostki (Wydział Biologii i Ochrony Środowiska UMK), jak też z jednostek zewnętrznych (Uniwersytet Jagielloński, Akademia Górniczo-Hutnicza, Morski Instytut Rybacki, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN). Natomiast Habilitant wykazał się dużo niższą aktywnością naukową w zagranicznych ośrodkach. Do takiej aktywności można zaliczyć Jego udział w kilku międzynarodowych konferencjach naukowych i wygłoszenie 2 referatów (ASM Microbe 2018, Atlanta, GA, USA; 16th AEP Congress, 2008, Nicea, Francja), opiekę nad stażem dr Hody AbdEl-Razek Kabary Bekhwagy Ismael w ramach umowy między Polską Akademią Nauk a Akademią Nauk Arabskiej Republiki Egiptu, 3-miesięczny staż jako Visiting profesor w Chung-ang University (Seoul, Republika Korei) oraz recenzowanie 35 manuskryptów w czasopiśmie zagranicznych.

W podsumowaniu stwierdzam, że dr Marcin Gołębiński posiada znaczący dorobek naukowy poza osiągnięciem naukowym, jak również dużą umiejętność w nawiązywaniu współpracy z innymi ośrodkami naukowymi w kraju, o czym świadczy Jego udział w realizacji wielu grantów.

5. Ocena działalności dydaktycznej i w zakresie popularyzacji nauki

Dr Marcin Gołębiński jest doświadczonym nauczycielem akademickim, prowadzącym liczne zajęcia (wykłady, ćwiczenia i seminaria) z szerokiego zakresu przedmiotów, takich jak: bioinformatyka, podstawy bioinformatyki, zastosowania bioinformatyki w biotechnologii, biologia plazmidów i metagenomika gleby. Wygłosił również wykłady popularnonaukowe i seminaria (m.in. Metagenomic approach for retrieval of genes potentially useful in soil bioremediation, 05/06/2008, Attempts to construct metagenomic library from polluted soil DNA, 19/06/2008, Faculty of Life Sciences, Chung-Ang University; Bioróżnorodność bakterii w osadach bałtyckich, arktycznych i z Florydy, 28/02/2011, Seasonal changes of bacteriophages population in Gulf of Gdansk, 07/12/2011, Instytut Oceanologii PAN, Sopot; Bioróżnorodność bakterii w próbkach z mogiłników, 24/08/2011, IBB Warszawa).

Ponadto, Habilitant był opiekunem naukowym 12 i promotorem 2 prac magisterskich oraz promotorem 5 prac dyplomowych (licencjackich). Był również dwukrotnie promotorem pomocniczym oraz opiekunem naukowym w dwóch kolejnych przewodach doktorskich. Dane

te wskazują na aktywny udział dr. M. Gołębińskiego w kształceniu młodej kadry naukowej oraz popularyzacji nauki.

6. Podsumowanie

Dr Marcin Gołębiński jest współautorem wartościowego dorobku publikacyjnego, szczególnie dotyczy to dodatkowego dorobku naukowego. Publikacje włączone do osiągnięcia naukowego powstały przy znaczącym udziale Habilitanta i w mojej ocenie stanowią wystarczający dorobek do uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Kandydat wykazał się dobrą znajomością realizowanej problematyki badawczej, opanowaniem i rozwinięciem nowoczesnych metod bioinformatycznych oraz efektywnym ich zastosowaniem w badaniach ekologii mikroorganizmów, do którego przyczyniła się współpraca z kilkoma krajowymi ośrodkami naukowymi. Stwierdzam, że dr Marcin Gołębiński jest przygotowany do samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Habilitant wykazał się również odpowiednimi kwalifikacjami dydaktycznymi w nauczaniu z zakresu bioinformatyki oraz opieki naukowej nad studentami.


W podsumowaniu stwierdzam, że dr Marcin Gołębiński spełnia wszystkie kryteria stawiane osobom ubiegającym się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego pod względem działalności naukowej, dydaktycznej, współpracy z organizacjami i instytucjami, jak również w zakresie popularyzacji nauki.

7. Wniosek końcowy

Analiza osiągnięcia naukowego pt. „**Masywne sekwencjonowanie amplikonów genów małej podjednostki rybosomu jako metoda analizy zbiorowisk mikroorganizmów w środowisku**” oraz pozostałego dorobku naukowego i dydaktyczno-organizacyjnego dr. Marcina Gołębińskiego w okresie po uzyskaniu stopnia doktora pozwala mi stwierdzić, że Habilitant spełnia wymogi określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r., Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r., poz. 85).

W związku z powyższym popieram wniosek dr. Marcina Gołębińskiego skierowany do Centralnej Komisji ds. Stopni Naukowych i Tytułów o wszczęcie postępowania przez Radę Naukową Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu oraz nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauk biologicznych.

Lublin, 27 marca 2020 r.


prof. dr hab. Monika Janczarek