

Kraków 08.04.2020

prof. dr hab. Wiesław Babik
Instytut Nauk o Środowisku
Wydział Biologii
Uniwersytet Jagielloński
ul. Gronostajowa 7
30-387 Kraków
email: wieslaw.babik@uj.edu.pl
tel. 12 664 51 71

**Recenzja osiągnięć naukowych dra Marcina Gołębiewskiego,
stanowiących podstawę ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego**

Poniższą recenzję przygotowałem w oparciu o przesłane dokumenty obejmujące: a) Dane wnioskodawcy, b) Autoreferat, c) Wykaz opublikowanych prac naukowych oraz informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki, d) Kopię dyplomu doktorskiego, e) Oświadczenia współautorów prac, f) Kopie artykułów wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Mimo, iż dokumenty nie zostały przygotowane w pełni zgodnie z wytycznymi Rady Doskonałości Naukowej – co jak sądzę wynika z posłużenia się przez kandydata wytycznymi Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów, dotyczących postępowań wszczynanych przed 30 kwietnia 2019 – uważam, że zawierają one wszystkie informacje niezbędne do sporządzenia oceny zgodnie z wymogami Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 20 lipca 2018 z późniejszymi zmianami (Dz. U. 2018, poz. 1668, Dz. U. 2020, poz. 85, 374, dalej: Ustawa).

Stopień naukowy doktora nauk biologicznych, w specjalności biochemia został nadany p. Marcinowi Gołębiewskiemu w roku 2005 przez Radę Naukową Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie. Od roku 2005 dr Gołębiewski zatrudniony jest na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, najpierw jako asystent w Zakładzie Biotechnologii, a od 2006 r. jako adiunkt w Katedrze Fizjologii Roślin i Biotechnologii. W r. 2011 Kandydat zatrudniony był także na pozycji bioinformatyka w Instytucie Oceanologii PAN w Sopocie. Dr Gołębiewski odbył jeden kilkumiesięczny staż zagraniczny, jako visiting profesor na uniwersytecie Chung-ang w Seulu. W dokumentacji nie znalazłem informacji o uprzednim ubieganiu się przez Kandydata o stopień doktora habilitowanego, z czego wnioskuję, że dr Gołębiewski się wcześniej o ten stopień nie ubiegał.

Kandydat przedstawił osiągnięcie naukowe zatytułowane *Masywne sekwencjonowanie amplikonów genów małej podjednostki rybosomu jako metoda analizy zbiorowisk mikroorganizmów w*

środowisku, stanowiące cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych spełniających wymóg Art. 219. ust. 1 pkt 2 lit. b Ustawy. W skład osiągnięcia wchodzi cztery artykuły opublikowane w czasopiśmie z listy JCR o współczynniku wpływu (impact factor, IF) od 2.7 do 3.6, ich łączny IF wynosi 12.2, a artykuły te były cytowane zgodnie z wnioskiem 100 razy (wg danych z 08.04.2020: 108 razy). Wszystkie te czasopisma znajdowały się w roku publikacji w wykazie MNiSW. Trzy z tych artykułów to prace oryginalne a jeden to publikacja przeglądowa. We wszystkich artykułach dr Gołębiewski jest pierwszym autorem, a w trzech również autorem korespondencyjnym. Procentowy udział waha się od 45 do 90%. Co istotne, we wszystkich artykułach Kandydat opracował koncepcję badań i przygotował manuskrypt. Nie budzi więc wątpliwości wiodąca rola dr Gołębiewskiego w przygotowaniu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Polskojęzyczny tytuł osiągnięcia wybrany został niezbyt szczęśliwie, gdyż sformułowanie „Masywne sekwencjonowanie” jest kalką z języka angielskiego. Lepiej brzmiałoby „wielkoskalowe” lub „wysokoprzepustowe” sekwencjonowanie. Pierwszy artykuł wchodzący w skład osiągnięcia, opublikowany w czasopiśmie *Microbial Ecology*, porównuje zgrupowania bakterii z gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi z pd. Polski. Najważniejszym pytaniem badawczym brzmiało: czy da się wyróżnić mikrobiom podstawowy (ang. *core microbiome*), charakterystyczny dla gleb zanieczyszczonych metami ciężkimi, lecz różniących się poziomem zanieczyszczenia, właściwościami fizykochemicznymi i porastającymi je zbiorowiskami roślinnymi? Analizy przeprowadzono w próbach gleby z dwóch regionów w zach. Małopolsce, łącznie przeanalizowano próbki z pięciu miejsc, stosując sekwencjonowanie amplikonów bakteryjnego 16S rDNA techniką 454. Mimo, że liczba prób i głębokość sekwencjonowania były stosunkowo niskie, uzyskano wartościowe i przekonujące wyniki. Z jednej strony stwierdzono istotne różnicowanie między miejscami, oraz negatywny wpływ stężenia Zn na różnorodność zespołów bakterii, z drugiej strony jednak udało się zidentyfikować mikrobiom podstawowy, to jest operacyjne jednostki taksonomiczne (OTU) obecne we wszystkich próbach w zbliżonej częstości na poziomie odpowiadającym mniej więcej rodzinom (grupowanie w OTU na poziomie dywergencji sekwencji 0.1) jak i, co ciekawsze, rodzajom bakterii (grupowanie na poziomie 0.03). Praca ta była jedną z pierwszych analizujących zbiorowiska bakterii w glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi i spotkała się z dużym zainteresowaniem, o czym świadczy ponad 130 cytowań (Google Scholar, 08.04.2020).

W drugiej pracy, opublikowanej w *Environmental Microbiology Reports*, przeanalizowano zbiorowiska bakterii z estuarium Wisły. Postawiono hipotezę, iż w estuariach rzek wpadających do słonawych mórz, takich jak Bałtyk, pozbawionych pływów, panują warunki sprzyjające

kolonizacji środowisk morskich/słonawych przez bakterie charakterystyczne dla wód słodkich. Przewidywano również, że uda się zidentyfikować mikrobiom podstawowy całego obszaru. Przeanalizowano trzy stanowiska, zlokalizowane w ujściu Wisły (słodkowodne), w Zatoce Gdańskiej bezpośrednio przy ujściu Wisły (strefa mieszania), oraz słonawe wody Zatoki Gdańskiej w okolicy Helu. Z każdego stanowiska pobrano próby w każdej z czterech pór roku. Zbiorowiska bakterii analizowano przez sekwencjonowanie fragmentu 16S rRNA. Ponieważ jako materiał wejściowy wykorzystano RNA, a nie DNA, pozwoliło to położyć nacisk na żywe, aktywne metabolicznie komórki. Stwierdzono, iż zbiorowiska bakterii z ujścia Wisły są silnie zróżnicowane, co świadczy o trudnościach w przystosowaniu się bakterii słodkowodnych do środowiska morskiego. Tym niemniej jednak stwierdzono, iż pewna część słodkowodnych taksonów spotykana jest też w Zatoce Gdańskiej, co autorzy uznają za wsparcie hipotezy, iż w estuariach pozbawionych pływów takie przystosowania są możliwe. Stwierdzono występowanie mikrobiomów podstawowych charakterystycznych dla poszczególnych okresów, liczyły one jednak niewiele taksonów. Co interesujące, w obrębie stosunkowo licznych OTU wykryto szczepy (wyróżnialne na poziomie dywergencji sekwencji 0.01) wykazujące zróżnicowane rozmieszczenie między stanowiskami co sugeruje ich adaptacje do różnych poziomów zasolenia. Nie stwierdzono, aby różnorodność bakterii była największa w strefie mieszania, a najniższa w słonawych wodach Zatoki Gdańskiej, jak można by się spodziewać na podstawie badań nad makrofauną denną, co sugeruje, że wzorce beta i alfa różnorodności są odmienne dla mikroorganizmów i makrofauny. Pewną wadą tego artykułu jest mocno opisowy charakter: staranniejsza selekcja materiału i lepsze podsumowanie danych pomogłyby czytelnikowi skupić się na najważniejszych wynikach tej interesującej pracy.

Trzecia publika oryginalna wchodząca w skład osiągnięcia ukazała się w czasopiśmie *Microbial Ecology*. Jest to kompleksowe studium sukcesji bakterii, grzybów i innych eukariontów w czasie pierwszych 8 miesięcy dekompozycji ściółki sosny. Praca ta łączy podejście problemowe z metodologicznym, ponieważ poza badaniem zmian składu zbiorowisk testowała ona na wpływ dodatku enzymów degradujących ściany komórkowe na wyniki analizy składu zbiorowisk. Skład zbiorowisk określano sekwencjonując amplikony 16S i 18S rDNA techniką 454. Dodatkowo wykorzystano ilościowy PCR dla prześledzenia dynamiki liczebności bakterii i grzybów. Nie zanotowano wpływu enzymów trawiących ściany komórkowe na ilość uzyskanego DNA czy różnorodność organizmów, co sugeruje, że efektywność zastosowanej homogenizacji kulkowej (ang. *bead-beating*) jest wystarczająca dla uwolnienia DNA z komórek przeważającej większości organizmów żyjących w dekomponującej ściółce. Stwierdzono szybkie zmiany zbiorowisk, szybki zanik organizmów związanych z filosferą, wzrost ilości DNA, różnorodności bakterii oraz

spadek różnorodności eukariontów w miarę postępu dekompozycji. Stwierdzono również, stosując metodę przewidywania potencjalnej aktywności metabolicznej na podstawie klasyfikacji taksonomicznej, że zgodnie z oczekiwaniami, w miarę postępu dekompozycji dochodziło do zastąpienia organizmów wyspecjalizowanych w kierunku wykorzystania prostych węglowodanów, poprzez organizmy wykorzystujące celulozę, aż do wyspecjalizowanych w wykorzystaniu ligniny. Stosując wnioskowanie pośrednie, oparte na wielowymiarowej analizie statystycznej, wykryto wzajemne oddziaływania między bakteriami i eukariontami. Ogólny obraz składu i zmian zespołów organizmów w dekomponującej ściółce sosny był zbliżony do lepiej poznanych ściółce liściastej. Oceniam tę publikację wysoko i spodziewam się, że będzie szeroko cytowana. Mam jednak jedno istotne zastrzeżenie. Mimo wykonania wielu powtórzeń biologicznych i technicznych, wszystkie one pochodzą z jednej lokalizacji, uwzględnienie powtórzeń geograficznych ogromnie zwiększyłoby moc wnioskowania.

Ostatnią część osiągnięcia stanowi obszerny artykuł przeglądowy w *Journal of Applied Microbiology*, omawiający techniki molekularne służące do określania składu zbiorowisk mikroorganizmów przy użyciu wysokoprzepustowego sekwencjonowania amplikonów kwasów nukleinowych. Autorzy omawiają wszystkie etapy projektu, począwszy od planowania eksperymentu, aż po uzyskanie odczytów sekwencji kwasów nukleinowych. Poszczególne rozdziały szczegółowo omawiają takie aspekty planowania eksperymentu, jak: powtórzenia biologiczne i techniczne, wybór genów markerowych i odpowiednich ich fragmentów, dobór starterów i technologii sekwencjonowania. Wyczerpująco przedyskutowano pobór i konserwację prób, izolację kwasów nukleinowych, przygotowanie bibliotek amplikonów, w tym dobór termostabilnej polimerazy DNA, optymalizację warunków reakcji PCR, kontrolę jakości bibliotek, jak również te aspekty sekwencjonowania, które wpływają na jakość i ilość danych. Podkreślono konieczność stosowania na wszystkich etapach eksperymentu odpowiednich kontroli i konieczność standaryzacji protokołów. Tego ostatniego zagadnienia dotyczy jedyna uwaga krytyczna, jaką mam odnośnie tej pracy. Otóż autorzy wielokrotnie odnoszą się do rekomendacji i procedur stosowanych przez konsorcja realizujące duże projekty analizy mikrobiomu, takie jak Human Microbiome Project czy Earth Microbiome Project, jednak nie przedstawiają pogłębionej dyskusji swoich rekomendacji i wyników przeglądu literatury w kontekście podejść/protokołów proponowanych przez te duże projekty. Biorąc po uwagę konieczność standaryzacji oraz zapewnienia porównywalności wyników, czytelnik powinien mieć możliwość zapoznania się z takim porównaniem. Poza tą uwagą oceniam artykuł przeglądowy bardzo wysoko, jest on użyteczny zarówno dla badaczy, jak i studentów, którzy dopiero zaczynają się zajmować tematem, jak i dla bardziej doświadczonych naukowców. Przegląd

literatury jest wyczerpujący i aktualny, schematy blokowe pozwalają wybrać optymalną ścieżkę postępowania w zależności od specyfiki problemów badawczego, tabele dobrze podsumowują omawiane zagadnienia, a rekomendacje są konkretne i użyteczne.

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe świadczy o samodzielności i dojrzałości badawczej Kandydata, który doskonale opanował i twórczo rozwinął warsztat badawczy w zakresie analizy środowiskowej mikrobiomów technikami sekwencjonowania wysokoprzepustowego. Pracy oryginalne wchodzące w skład osiągnięcia powstały przy użyciu sekwencjonowania 454, które obecnie zostało zastąpione przez inne technologie sekwencjonowania, w szczególności Illumina. Jednak zasady projektowania eksperymentu i analizy danych pozostają podobne, a różnice dotyczą głównie kwestii technicznych. Dlatego też zdobyte doświadczenie pozwoliło dr. Gołębiowskiemu na wdrożenie z sukcesem w późniejszych badaniach techniki Illumina.

Poza artykułami wchodzącymi w skład osiągnięcia, na dorobek dra Gołębiowskiego składa się 19 artykułów naukowych, opublikowanych w latach 2007 – 2019, a więc już po uzyskaniu stopnia doktora, z których 18 opublikowano w czasopismach z IF (zakres: 0.9 – 4.4, łączny IF 54.4). Przykładowe tytuły czasopism to: *Applied and Environmental Microbiology*, *Microbial Ecology*, *Frontiers in Microbiology*, *BMC Plant Biology*, *PLOS One*. Publikacje te dotyczą analizy zbiorowisk mikroorganizmów w środowisku, a więc głównego obszaru zainteresowań dr. Gołębiowskiego, wpływu czynników środowiskowych na transkryptom roślin, a także różnorodnych zagadnień z zakresu szeroko pojętej biologii molekularnej. Udział dra Gołębiowskiego w powstaniu tych artykułów jest zróżnicowany, często był niewielki i ograniczał się do przeprowadzenia analiz bioinformatycznych i statystycznych. Wskaźniki naukometryczne charakteryzujące całościowy dorobek naukowy dra Gołębiowskiego kształtują się następująco: sumaryczny IF: 67.7, liczba cytowań bez bez autocytacji: 462, indeks Hirscha: $h = 10$. Są to stosunkowo wysokie wartości, wskazujące na dobre przyjęcie badań Kandydata przez środowisko naukowe.

Wyniki badań dra Gołębiowskiego zostały przedstawione na licznych konferencjach krajowych i międzynarodowych, o czym świadczy 38 abstraktów konferencyjnych. Jednak tylko w tylko w czterech z nich Kandydat jest pierwszym, a w dwóch ostatnim autorem. Również liczba ustnych wystąpień Kandydata – cztery referaty konferencyjne nie jest imponująca.

Dr Gołębiowski jest kierownikiem jednego grantu NCN, co świadczy o umiejętności zdobywania finansowania badań ze źródeł zewnętrznych, jak również wykonawcą w dziewięciu projektach finansowanych ze źródeł zewnętrznych, co z kolei świadczy o szerokiej współpracy naukowej Kandydata.

Do osiągnięć dra Gołębiewskiego w zakresie kształcenia kadry naukowej zaliczyć trzeba pełnienie funkcji promotora pomocniczego w dwóch przewodach doktorskich, jak również opieka naukowa nad dwójką doktorantów, którzy uzyskali stopień doktora w r. 2013 – domyślam się, że opieka ta odpowiadała funkcji promotora pomocniczego. Działalność na rzecz środowiska naukowego obejmowała przygotowanie kilkunastu recenzji dla specjalistycznych czasopism naukowych. Do ważnych aspektów działalności Kandydata w zakresie organizacji badań naukowych zaliczam udział w projektowaniu i wyposażeniu laboratorium genomycznego w Interdyscyplinarnym Centrum Nowoczesnych Technologii UMK.

Mimo, iż stopień doktora habilitowanego jest stopniem naukowym, a co za tym idzie, do jego uzyskania nie są wymagane osiągnięcia dydaktyczne, to krótkie podsumowanie tych osiągnięć jest wskazane, gdyż kandydat zatrudniony jest na uniwersyteckim stanowisku badawczo-dydaktycznym. Dorobek dydaktyczny dra Gołębiewskiego jest bogaty, obejmuje przygotowanie i prowadzenie kursów z zakresu bioinformatyki, biologii molekularnej i mikrobiologii środowiskowej, a także opiekę nad kilkunastoma pracami magisterskimi i licencjackimi.

Podsumowując, uważam, że dr Marcin Gołębiewski posiada w dorobku osiągnięcia naukowe, stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny oraz wykazuje się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni/institucji naukowej. W związku z tym stwierdzam, iż dr Marcin Gołębiewski spełnia wymagania stawiane osobom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, określone w art. 219 ust. 1 p. 2 Ustawy i wnioskuje o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.

