



Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku
20-708 Lublin, ul. Konstantynów 1H
tel. +48 81 445 45 53, fax +48 81 445 45 51, e-mail: binos@kul.pl

Prof. dr hab. Zofia Stępniewska

Lublin 05.05.2017

Ocena osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego Pani dr Aleksandry Burkowskiej-But w związku z postępowaniem habilitacyjnym na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie – biologia

Niniejsza ocena powstała na podstawie analizy dostarczonych dokumentów, obejmujących:

- posiadany dyplom i stopień naukowy
- informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych,
- wskazanie osiągnięcia naukowego: *"Teżnie jako czynnik kształtujący mikrobiologiczną jakość powietrza w uzdrowisku"*, opublikowanego w 2016 w Wydawnictwie Naukowym Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, którego recenzentem wydawniczym był dr hab. Krzysztof Frączek;
- omówienie osiągnięć naukowo-badawczych przed i po uzyskaniu stopnia doktora
- podsumowanie ilościowe dorobku naukowego

Wymienione dokumenty zostały przygotowane zgodnie z wymaganiami Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku (z późniejszymi zmianami): Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz ustawy o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

I. Wykształcenie i praca zawodowa:

Pani dr Aleksandra Burkowska-But uzyskała tytuł magistra na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w roku 1994. Pracę magisterską pt. *„Wpływ różnych stężeń substancji humusowych ma właściwości fizjologiczne bakterii planktonowych wyizolowanych z jeziora Czarne"*, wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Wojciecha Donderskiego. Po ukończeniu studiów podjęła studia doktoranckie na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, które zakończyła pod kierunkiem prof. dr hab. Wojciecha Donderskiego pracą doktorską w roku 2004 pt. *„Wpływ substancji*

humusowych na rozwój i aktywność metaboliczną wodnych bakterii heterotroficznych". Pracę naukową realizowała początkowo jako doktorant a potem asystent i adiunkt do chwili obecnej w Zakładzie Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika.

Zainteresowania badawcze Pani dr Aleksandry Burkowskiej-But dotyczą bardzo ważnych zagadnień związanych z bioróżnorodnością i rolą mikroorganizmów zawieszonych w powietrzu atmosferycznym w kształtowaniu jego zdrowotności i mikroklimatu. Ponieważ uwalnianie drobnoustrojów z różnych źródeł naturalnych i antropogenicznych, ich przemieszczanie się i żywotność wywierają istotny wpływ na jakość życia człowieka, podjęte przez Autorkę zagadnienia, dotyczące analizy składu konsorcjum mikrobiologicznego zasiedlającego aerozole formowane w otoczeniu tężni solankowych w Ciechocinku, wysoko cenionego uzdrowiska przewlekłych chorób układu oddechowego, należą do wyjątkowych pod względem naukowym i aplikacyjnym.

II. Ocena osiągnięcia naukowego:

W przedstawionej do oceny monografii: " *Tężnie jako czynnik kształtujący mikrobiologiczną jakość powietrza w uzdrowisku*", opublikowanego w 2016 w Wydawnictwie Naukowym Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, ISBN 978-83-231-3714-6, Autorka skoncentrowała się na przedstawieniu źródeł mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza, cyklu życiowym mikroorganizmów w atmosferze, opisie liczebności bakterii w powietrzu różnych środowisk naturalnych i antropogenicznych, występujących w różnych krajach świata. Znaczną uwagę skupiła na bardzo trwałych w powietrzu atmosferycznym formach zarodników i fragmentach grzybów pleśniowych. Okazało się bowiem, że oprócz dominujących Gram-dodatnich bakterii z typu Proteobacteria oraz Firmicutes, Actinobacteria i Bacteroidetes stwierdziła również występowanie licznych zarodników grzybów z rodzajów: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* oraz *Epicoccum*.

Przedstawiając znaczenie bioaerozoli dla zdrowia człowieka Autorka analizuje dwojaką rolę mikroorganizmów je zasiedlających. Z jednej strony ogromnie pozytywną oczyszczającą, z drugiej zaś zdecydowanie negatywną ze względu na możliwość zasiedlania tego podłoża przez saprofityczne mikroorganizmy z rodzajów: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Staphylococcus* oraz szczególnie niebezpieczne przy inhalacjach bioaerozole patogene zawierające liczne gatunki chorobotwórcze jak: *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, *Ralstonia paucula*, *Mycobacterium tuberculosis*, mogące wywołać niebezpieczne schorzenia dróg oddechowych. Dlatego też formułując założenia badawcze Autorka poddała analizie zarówno jakościowej jak i ilościowej zmienność sezonową

biaerozoli bakteryjnych i grzybowych w otoczeniu inhalatorów uzdrowiska Ciechocinek, Inowrocław i porównawczo w obszarze miejskim. Umożliwiło to dokonanie w oparciu o zastosowane analizy statystyczne: Statistica 6.0, analizę wariancji ANOVA, test post-hoc Tukey'a oraz wyznaczenie współczynników korelacji Pearson'a dokonanie oceny skażenia mikrobiologicznego powietrza w badanych środowiskach, wykazanie zmienności sezonowej i punktowej w rozciągłości czterech lat testowych ((2005-2008) a ponadto dokonania analizy bioróżnorodności drobnoustrojów w solankach tęźniowych. Do wykonania tej części badań Autorka wykorzystwała najnowsze dostępne narzędzia badawcze jak izolację metagenomowego DNA z komórek mikroorganizmów zatrzymanych na poliwęglanowych filtrach powietrza, wyznaczenie jego stężenia, a następnie przeprowadzenie amplifikacji sekwencji 16S rDNA w reakcji PCR przy użyciu polimerazy i uniwersalnych starterów dla domeny Bacteria i Archaea.

Po przeprowadzeniu analiz techniką Real-Time PCR z zastosowaniem zestawu Kapa Library Preparation a następnie zestawu MiSeq Reagent Kit v3 Autorka przygotowała materiał do sekwencjonowania z wykorzystaniem aparatu MiSeq. Uzyskane sekwencje 16S rDNA poddała opracowaniu w oparciu o istniejące bazy informatyczne i ostatecznie wyłoniła operacyjne jednostki taksonomiczne (OTUs) przy 97% poziomie identyczności. Ten zakres prac identyfikacyjnych Autorka wykonała we współpracy z Zakładem Mikrobiologii Uniwersytetu Etvos w Budapeszcie.

Innym bardzo cennym elementem przedstawionych badań była ocena zdolności badanych mikroorganizmów do formowania błony biologicznej tzw. biofilmu w różnych solankach i na gałązkach tarniny. Biofilm, który jest strukturą trójwymiarową, umożliwiał mikroorganizmom prowadzenie procesów biochemicznych w otoczeniu macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *extrapolimeric substances*; EPS), złożonej z białek, cukrów i tłuszczów. Spełniając funkcję ochronną w stosunku do bakterii w nim występujących, biofilm, funkcjonował w złożonym zbiorowisku nawet w niesprzyjających warunkach.

Okazało się w wyniku przeprowadzonych badań powietrza, że liczebność bakterii i promieniowców w odniesieniu do całego obszaru uzdrowiska Ciechocinek wg. Polskiej Normy (PN-89/Z-04111/02) stanowiła podstawę zakwalifikowania do kategorii powietrza niezanieczyszczonego bakteriami mezofilnymi (w 92%), β -hemolizującymi (w 58%) oraz promieniowcami (w 64%) natomiast średnio zanieczyszczonego bakteriami α -hemolizującymi (w 62%). Wyniki wieloczynnikowej analizy wariancji wykazały, że spośród badanych czynników (temperatura, wilgotność, prędkość wiatru) najbardziej istotnym czynnikiem wpływającym na liczebność mikroorganizmów w aerozolu jest temperatura. Liczebność bakterii hemolizujących w obszarze uzdrowiskowym dominowała w okresie

letnim, natomiast gronkowce mannitolododatnie podobnie jak promieniowce przeważały w okresie jesiennym.

Na szczególną uwagę zasługuje przeprowadzona przez Autorkę analiza identyfikacyjna bakterii mezofilnych, która wykazała, że wśród dominujących laseczek (70,6%) występują gatunki *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus muralis*, *Bacillus simplex*, *Bacillus circulans* z rodzaju *Bacillus* oraz gatunki *Brevibacillus brevis* oraz *Brevibacillus agri* z rodzaju *Brevibacillus* jak również inne stanowiące 0,9%. Wśród bakterii mezofilnych o formach ziarniaków, stanowiących 25,6% zidentyfikowano dominujący rodzaj *Staphylococcus* reprezentowany przez gatunki *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus aureus*, z rodzaju *Micrococcus* gatunki *Micrococcus luteus*, *Micrococcus roseus* z rodzaju *Enterococcus*: *Enterococcus faecium*, z rodzaju *Aerococcus*: *Aerococcus viridans* oraz inne stanowiące 1,7%. Natomiast wśród bakterii w formie pałeczek (3,8%) zidentyfikowano gatunki *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas eruginosa*, *Pseudomonas xanthomarina* z rodzaju *Pseudomonas*, z rodzaju *Serratia*: *Serratia liquefaciens*, z rodzaju *Aeromonas*: *Aeromonas hydrophila*, *Stenotrophomonas*: *Stenotrophomonas maltophilia* oraz inne stanowiące 0,2%.

Obok analizy bakterii Autorka przedstawiła również bardzo cenną analizę jakościową i ilościową grzybów pleśniowych, osadzonych na pyłach i zawieszonych w aerozolu, które wyznaczają stan epidemiologiczny powietrza. W czteroletnim okresie badań najwyższą liczebność grzybów pleśniowych wykazano w okresie lata w miesiącach: czerwiec- sierpień, która ulegała istotnemu obniżeniu w miesiącach zimowych: styczeń-luty. Zmienność ta została potwierdzona jednoczynnikową analizą wariancji ANOVA w powietrzu uzdrowiska Ciechocinek. Stopień zanieczyszczenia powietrza grzybami pleśniowymi na terenie uzdrowiska został przez Autorkę zakwalifikowany (zgodnie z Polską Normą PN-89/Z-04111/03) w 81,1% do kategorii powietrza czystego, jednakże w 12,6% do negatywnie oddziałującego na środowisko naturalne. Te wyniki są cenne, gdyż grzyby pleśniowe obok pyłków roślinnych mogą stanowić przyczynę alergii oddechowych. Wysoka różnorodność gatunkowa grzybów pleśniowych, określona przez Autorkę, występowała głównie latem i jesienią, obejmując dominujące rodzaje: *Cladosporium* (57,9%), *Alternaria* (11,1%), *Aspergillus* (7,9%), *Penicillium* (7,3%), *Fusarium* (6,3%), *Mucor* (4,2%) i *Boirytis* (1,1%). Wszystkie występujące rodzaje zaliczane są do alergenów pleśniowych, mogących spowodować katar alergiczny czy astmę oskrzelową, a niektóre z nich zdolne są do tworzenia szkodliwych mikotoksyn. Badane przez Autorkę próby powietrza z dwóch uzdrowisk Ciechocinek i Inowrocław nie wykazały poziomu grzybów pleśniowych powyżej wartości 10^4

jtk.m⁻³, co zgodnie z Polską Normą wskazuje na poziom zagrażający środowisku naturalnemu.

Do szczególnie interesującej części opracowania należy analiza przeżywalności potencjalnych patogenów: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas eruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, pochodzących ze źródeł antropogenicznych w solankach o zróżnicowanym zasoleniu od 5 do 27% NaCl. Okazało się bowiem, że wszystkie objęte badaniami bakterie są w stanie przetrwać w warunkach zasolenia co najmniej 7 dni, zachowując swoją żywotność nawet przez okres 28 dni. Istotnym czynnikiem wpływającym na wzmocnienie tej żywotności okazała się obecność materii organicznej w solance, podobnie jak podłoże do tworzenia biofilmu. Stąd też, jak wykazała Autorka, oddalenie się od otwartych inhalatoriów skutkowało wzrostem liczebności bakterii, tak że w odległości ok 50 m zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza nie różniło się już istotnie od stanowisk zlokalizowanych na terenach miejskich.

Reasumując pragnę podkreślić, że wykonane prace badawcze Pani dr Aleksandry Burkowskiej-But przedstawione w osiągnięciu naukowym *"Tężnie jako czynnik kształtujący mikrobiologiczną jakość powietrza w uzdrowisku"* oceniam jako szczególnie wartościowe, gdyż wnoszą istotny wkład w poznanie mikrobiologicznych zanieczyszczeń powietrza, liczebności bakterii, promieniowców i grzybów pleśniowych w odniesieniu do całego obszaru uzdrowiska Ciechocinek. Ponadto rozpoznanie procesu tworzenia biofilmu na powierzchni aerozoli, jego trwałości i interakcji z parametrami środowiska dało podstawę oceny jakości powietrza w otoczeniu otwartych inhalatoriów i obszarach miejskich. Na szczególną uwagę zasługuje cykl badań poświęconych analizie przeżywalności potencjalnych patogenów aerozoli: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas eruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, pochodzących ze źródeł antropogenicznych w solankach o zróżnicowanym zasoleniu.

Biorąc pod uwagę powyższą charakterystykę, stwierdzam, że osiągnięcie naukowe Pani dr Aleksandry Burkowskiej-But przedstawione w postaci monografii: *"Tężnie jako czynnik kształtujący mikrobiologiczną jakość powietrza w uzdrowisku"* może stanowić podstawę do nadania Autorce stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie –biologia.

III. Ocena dorobku naukowego:

Dorobek naukowy Pani dr Aleksandry Burkowskiej-But składa się łącznie z 37 pozycji, w tym 24 pozycje stanowią publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR). Oryginalne prace badawcze stanowią 36 pozycji (4 przed uzyskaniem

stopnia doktora, 32 po uzyskaniu stopnia doktora), 1 rozdział w monografii, 4 rozdziałów w monografiach wykonanych po doktoracie.

Habilitantka, szczególnie po uzyskaniu stopnia doktora aktywnie uczestniczy w międzynarodowych (15) i krajowych (27) konferencjach i zjazdach naukowych, wielokrotnie referując wyniki swoich osiągnięć.

Łączny Impact Factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 30,895, łączna liczba punktów MNiSW =602.

Indeks Hircha według bazy Web of Science (WoS):4, a indeks cytowań (bez autocytowań) wynosi 65.

Powyższe dane wskazują, że dorobek naukowy Habilitantki jest znaczący i od czasu ostatniego awansu powiększył się zasadniczo.

Dorobek naukowy Pani dr Aleksandry Burkowskiej-But jest dosyć zróżnicowany: dotyczy ekologii mikroorganizmów wodnych, gdzie w obecności substancji humusowych (SH) Autorka poszukiwała stymulowania rozwoju drobnoustrojów i działania ochronnego w warunkach promieniowania UV. W badaniach wód głębinowych we współpracy z Zakładem Geologii i Hydrologii UMK Autorka wykazała istotny wpływ utleniania piryty przez *Thiobacillus denitryficans* na poziom jonów siarczanowych w głębokim poziomie wodonośnym.

Pani dr Aleksandra Burkowska-But wykonała pionierskie prace w ramach projektu NCN nad monitoringiem mikrobiologicznym powietrza i gleby w rejonie rekultywowanego składowiska odpadów komunalnych w Toruniu, wyznaczając kierunki do opracowania testów epidemiologicznych, dotyczących poprawy oddziaływania składowisk odpadów na człowieka.

Szczególnie interesujący jest wkład Autorki w badania prowadzone w ramach projektu międzynarodowego „Kultura funeralna elit Rzeczypospolitej w XVI-XVII wieku na terenie Korony i Wielkiego Księstwa Litewskiego. Próba analizy interdyscyplinarnej.” dotyczących oceny zagrożeń mikrobiologicznych archeologów, wykonujących prace w kryptach i ze szczątkami archiwalnymi.

Pracując nad zagrożeniem, mogącym wystąpić w środowisku wodnym, Habilitantka skupiła uwagę na zanieczyszczeniach naturalnych zbiorników wodnych, basenach uzdrowiskowych czy też skażeniem bakteryjnym wody pitnej, wywołanym nieodpowiednim jej przechowywaniem.

Szczególną wartość posiadają opracowania Autorki z zakresu działania chitynazy promieniowców w zwalczaniu fitopatogenów, szczególnie jako czynnika grzybobójczego czy też biobójczego działania N-halamin wbudowanych na powierzchni polimerów.

Pani dr Aleksandra Burkowska-But aktywnie uczestniczyła w realizacji projektów badawczych jako wykonawca w latach 2012-2013 w projekcie międzynarodowym: „Kultura funeralna elit Rzeczypospolitej w XVI-XVII wieku na terenie Korony i Wielkiego Księstwa Litewskiego. Próba analizy interdyscyplinarnej” w ramach przedsięwzięcia „Narodowy Program Rozwoju Humanistyki” oraz w projektach krajowych jako kierownik (2 PO4G): „Mikroflora powietrza uzdrowiska Ciechocinek” lub wykonawca w 5 projektach KBN lub NCN. Ponadto jako kierownik realizowała 3 projekty finansowane przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu oraz 1 projekt dotyczący bioremediacji gleby z ropopochodnych, finansowany przez „Mar-Pol” w ramach Programu Operacyjny Kapitał Ludzki, z funduszy Unii Europejskiej.

Habilitantka odbyła liczne staże naukowe krajowe oraz dwa zagraniczne w Czechach w Katedrze Biologii i Biochemii Uniwersytetu w Pardubicach.

Przedstawione powyżej dokonania naukowe Pani dr Aleksandry Burkowskiej-But wskazują, że jest Ona już dojrzałym, samodzielnym naukowcem, dobrze przygotowanym do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej i kierowania zespołem badawczym.

IV. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej:

Pani dr Aleksandra Burkowska-But prowadziła lub nadal prowadzi opiekę naukową nad 21 pracami dyplomowymi na kierunku biotechnologia, biologia i ochrona środowiska; 33 pracami magisterskimi w Zakładzie Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii UMK, ponadto sprawuje opiekę nad 1 doktorantką w charakterze promotora pomocniczego.

V. Wniosek końcowy:

Oceniając całokształt działalności uniwersyteckiej Pani dr Aleksandry Burkowskiej-But, obejmującej działalność naukową: dorobek naukowy i osiągnięcia naukowe będące podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego oraz działalność dydaktyczną i organizacyjną stwierdzam, że spełniają one wymagania określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 r. (z późn. zmianami) i na tej podstawie pozytywnie opiniuję wniosek Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika o nadanie Pani dr Aleksandrze Burkowskiej-But stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie - biologia.