

Prof. dr hab. Katarzyna Hryniewicz
Katedra Mikrobiologii, Instytut Biologii
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Lwowska 1, 87-100 Toruń
Tel. +48 (56) 611-25-40
E-mail: hrynk@umk.pl

Toruń 28.07.2026

Podstawa formalna opinii

Opinia została sporządzona dla Rady Dyscypliny Biotechnologia Uniwersytetu Gdańskiego w dyscyplinie biotechnologia.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Marcin Borowicz

p.t. „Ekologiczna rola tailocyn (cząstek przypominających ogonki fagowe) u bakterii pektynolitycznych z rodziny Pectobacteriaceae”

w postępowaniu doktorskim w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych
w dyscyplinie biotechnologia

Recenzja została przygotowana w oparciu o przepisy ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce oraz w oparciu o opinię i stanowisko recenzenta w sprawie dopuszczenia mgr. Marcina Borowicza do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Rozprawa została przygotowana pod kierunkiem prof. dr hab. Roberta Czajkowskiego, przy udziale promotorki pomocniczej dr hab. Doroty Krzyżanowskiej, na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii UG i GUMed.

1. Ocena układu rozprawy doktorskiej, w tym informacja o jej częściach składowych

Rozprawa ma przejrzysty i logiczny układ. Jej struktura jest zgodna z ogólnymi zasadami i wymogami stawianymi rozprawom doktorskim przygotowanym w formie spójnego tematycznie cyklu publikacji. Obejmuje cztery oryginalne prace naukowe opublikowane w latach 2023–2026 w uznanych międzynarodowych czasopismach naukowych.

(A1) Borowicz i in. (2023) *Frontiers in Microbiology*

(<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1307349>)

(A2) Sobolewska i in. (2025) *Scientific Reports*

(<https://doi.org/10.1038/s41598-025-13158-1>)

(A3) Borowicz i in. (2025) *Molecular Ecology*

(<https://doi.org/10.1111/mec.17728>)

(A4) Borowicz i in. (2026) *ISME Communications*

(<https://doi.org/10.1093/ismeco/ycag012>).

W trzech spośród czterech publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej - A1, A3 i A4 - mgr Marcin Borowicz jest pierwszym autorem, natomiast w publikacji A2 jest trzecim współautorem. Jak wynika z załączonych oświadczeń autorskich, zakres jego udziału był szczególnie szeroki w pracach pierwszoautorskich i obejmował zarówno współtworzenie koncepcji badań, jak i ich realizację, analizę wyników oraz przygotowanie manuskryptów.

W publikacji A1 Doktorant uczestniczył w opracowaniu koncepcji i projektu badań, wykonał większość doświadczeń laboratoryjnych, w tym indukcję i oczyszczanie tailocyn oraz testy ich aktywności w oddziaływaniach międzygatunkowych, a także brał udział w przygotowaniu i wizualizacji wyników, ich interpretacji oraz opracowaniu pierwszej i kolejnych wersji manuskryptu. W publikacji A3 współtworzył koncepcję i schemat badań, wykonał większość doświadczeń laboratoryjnych, obejmujących m.in. oczyszczanie tailocyn, obrazowanie metodą AFM, testy aktywności bójczej oraz doświadczenia indukcyjne. Uczestniczył również w przygotowaniu rycin, współpracowaniu i optymalizacji wybranych analiz bioinformatycznych, w tym analiz syntenii klastrów genowych i dendrogramu opartego na profilach fenotypowych, interpretacji wyników oraz przygotowaniu i kolejnych korektach manuskryptu. W publikacji A4 nadzorował doświadczenia laboratoryjne realizowane przez studentów, prowadził analizy bioinformatyczne i formalną analizę danych, uczestniczył w przygotowaniu rycin, opracował pierwszą wersję manuskryptu oraz uczestniczył w pozyskaniu finansowania badań. Jego udział w publikacji A2 miał węższy, uzupełniający charakter i obejmował udział w projektowaniu prac eksperymentalnych, pomocy podczas wybranych doświadczeń związanych z indukcją i ilościową oceną tailocyn oraz przygotowaniu i rewizji manuskryptu.

Stosowne, podpisane oświadczenia Doktoranta i pozostałych współautorów zostały przygotowane dla wszystkich czterech publikacji i zamieszczone w rozprawie doktorskiej w Aneksie 2. Opisany w nich zakres zadań potwierdza znaczący, twórczy i w dużej mierze samodzielny udział Doktoranta w realizacji cyklu publikacji. Trzy publikacje pierwszoautorskie oraz udokumentowany udział we wszystkich etapach powstawania tych prac potwierdzają jego istotny wkład w rozwój badań nad biologiczną i potencjalną ekologiczną rolą tailocyn u bakterii z grupy *Soft Rot Pectobacteriaceae* (SRP).

W skład rozprawy doktorskiej, poza czterema wymienionymi publikacjami naukowymi, wchodzi także: streszczenie w języku angielskim i polskim, rozbudowane wprowadzenie teoretyczne, określenie celu i zakresu pracy, syntetyczne omówienie znaczenia uzyskanych wyników wraz z perspektywami dalszych badań w rozdziale „Summary and outlook”, uzupełniające wykazy piśmiennictwa, informacje o autorze i jego dorobku naukowym oraz materiały uzupełniające do wszystkich czterech publikacji.

2. Ocena zastosowanego piśmiennictwa

Piśmiennictwo wykorzystane w części syntetycznej rozprawy jest aktualne, obszerne i adekwatne do podjętej problematyki badawczej. Obejmuje zarówno publikacje przeglądowe, jak i oryginalne prace eksperymentalne dotyczące konkurencji w zbiorowiskach bakteryjnych związanych z roślinami, biologii i ewolucji tailocyn, domestykacji profagów, mechanizmów działania bakteriocyn przypominających ogonki fagowe oraz ekologii i patogeniczności bakterii należących do grupy Soft Rot Pectobacteriaceae (SRF). Uwzględniono również literaturę poświęconą odpowiedzi SOS, stresowi oksydacyjnemu i roli reaktywnych form tlenu podczas infekcji roślin, a także oddziaływaniom międzybakteryjnym i kształtowaniu struktury mikrobiomu roślinnego. Dobór źródeł właściwie wspiera zarówno część wprowadzającą, uzasadnienie celów badawczych, jak i syntetyczną interpretację uzyskanych wyników. Na uwagę zasługuje wykorzystanie najnowszych publikacji, w tym prac z lat 2015–2025. Świadczy to o bardzo dobrej orientacji Doktoranta w aktualnym stanie wiedzy i dynamicznie rozwijających się kierunkach badań. Jednocześnie wykorzystanie klasycznych prac dotyczących biologii bakteriofagów, bakteriocyn oraz bakterii pektynolitycznych pozwala na właściwe przedstawienie historycznych i mechanistycznych podstaw analizowanego zagadnienia. W związku z powyższym, merytoryczny dobór piśmiennictwa oceniam wysoko.

3. Wskazanie oraz ocena celu pracy

Nadrzędnym celem rozprawy było określenie znaczenia tailocyn jako elementu arsenału konkurencyjnego bakterii należących do grupy Soft Rot Pectobacteriaceae (SRP) oraz ustalenie zakresu ich aktywności bójczej - od oddziaływań między blisko spokrewnionymi szczepami SRP po działanie wobec odległych filogenetycznie bakterii należących do innych rodzajów. Cel główny został rozwinięty w postaci czterech pytań badawczych, obejmujących:

- (i) identyfikację i charakterystykę funkcjonalnej tailocyny produkowanej przez bakterie z rodzaju *Dickeya* oraz określenie jej właściwości strukturalnych, genetycznych i fizykochemicznych,
- (ii) ustalenie czynników indukujących produkcję tailocyn oraz ocenę, czy czynniki te mogą występować w naturalnych siedliskach bakterii SRP,
- (iii) określenie częstości występowania zdolności do syntezy tailocyn wśród środowiskowych szczepów SRP,
- (iv) sprawdzenie, czy aktywność bójcza tailocyn wykracza poza grupę SRP i obejmuje odległe filogenetycznie bakterie zasiedlające te same środowiska związane z roślinami.

Cel pracy należy uznać za jasno sformułowany, ambitny i naukowo istotny. Poszczególne pytania badawcze tworzą logiczną sekwencję, prowadzącą od molekularnej charakterystyki

pojedynczej tailocyny P2D1, przez określenie warunków jej produkcji, ocenę rozpowszechnienia tego typu struktur wśród bakterii SRP oraz analizę sieci oddziaływań między szczepami, aż po zbadanie aktywności P2D1 wobec bakterii spoza tej grupy. Takie ujęcie pozwoliło na połączenie badań mikrobiologicznych, molekularnych, mikroskopowych, genomowych i ekologicznych w jeden spójny program badawczy.

Pewnego doprecyzowania wymaga natomiast sformułowanie celu głównego jako „ustalenie roli tailocyn” w konkurencji bakterii SRP. Przeprowadzone badania przekonująco wykazują występowanie, aktywność bójczą, różnorodność, warunki indukcji oraz szeroki potencjalny zakres ekologicznego oddziaływania tailocyn. Nie dostarczają jednak bezpośredniego dowodu, że produkcja tailocyn zwiększa dostosowanie producenta lub determinuje wynik konkurencji w naturalnym środowisku albo podczas infekcji rośliny, co zresztą zostało przez Doktoranta uczciwie zaznaczone w końcowej części rozprawy.

4. Wskazanie oraz ocena zastosowanych metod badawczych

W rozprawie zastosowano szeroki i komplementarny zestaw metod mikrobiologicznych, molekularnych, mikroskopowych, proteomicznych, genomowych, bioinformatycznych i fitopatologicznych. Produkcję tailocyn indukowano mitomycyną C, nadtlaniem wodoru oraz wybranymi antybiotykami. Ich aktywność oceniano za pomocą testów *spot assay*, oznaczania CFU i doświadczeń konkurencyjnych. Badano również stabilność tailocyn w różnych warunkach fizykochemicznych, ich adsorpcję do komórek oraz ostrą toksyczność wobec *Caenorhabditis elegans*.

Morfologię i oddziaływanie tailocyn z komórkami bakterii analizowano metodami TEM i AFM, natomiast liczbę oraz rozkład wielkości cząstek określano z użyciem NanoSight. Białka strukturalne identyfikowano za pomocą SDS-PAGE i ESI LC-MS/MS. Zmiany ekspresji genów badano metodą RT-qPCR. Istotnym elementem pracy było skonstruowanie mutantów delecyjnych *Dickeya dadantii* 3937 oraz ich komplementacja, co umożliwiło potwierdzenie zależności aktywności bójczej od funkcjonalnej tailocyny P2D1.

Analizy genomowe obejmowały m.in. BLAST, predykcję regionów profagowych, analizę syntenii klastrów, filogenomikę, ANI (Average Nucleotide Identity) i analizę pangenu. Izolaty środowiskowe poddano sekwencjonowaniu całogenomowemu oraz profilowaniu BIOLOG (GEN III i EcoPlates). Zastosowano także modele środowiskowe i roślinne, obejmujące wodę rzeczną, tkankę ziemniaka, testy wirulencji i biokontroli, a ponadto przeprowadzono screening 480 izolatów glebowych i ryzosferowych pod kątem wrażliwości na P2D1.

Zakres metod był adekwatny do wieloaspektowego charakteru rozprawy i umożliwił analizę tailocyn na poziomie strukturalnym, molekularnym, funkcjonalnym i genomowym. Połączenie metod mikroskopowych, proteomicznych, genetycznych i mikrobiologicznych stanowi istotną zaletę pracy. Szczególnie wartościowe było zastosowanie mutantów delecyjnych i komplementacji, które wzmocniło wiarygodność wniosków dotyczących funkcji P2D1.

5. Ocena części rozprawy dotyczącej omówienia wyników badań

Omówienie wyników w części syntetycznej rozprawy zostało przygotowane starannie, logicznie i z zachowaniem spójności pomiędzy poszczególnymi publikacjami. Doktorant przedstawił konsekwentny tok badań - od identyfikacji i charakterystyki modelowej tailocyny P2D1, przez analizę warunków i dynamiki jej produkcji, następnie określenie rozpowszechnienia tailocyn oraz wzorców oddziaływań w obrębie bakterii z grupy Soft Rot *Pectobacteriaceae* (SRP), aż po wykazanie aktywności P2D1 wobec odległych filogenetycznie bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Taki układ pozwala na stopniowe rozszerzanie skali analiz: od poziomu pojedynczej cząstki i kodujących ją genów do potencjalnego znaczenia tailocyn w oddziaływaniach zachodzących w środowisku związanym z roślinami. Na podkreślenie zasługuje również to, że w końcowej części rozprawy Doktorant wskazuje ograniczenia przeprowadzonych badań, w tym brak bezpośredniego potwierdzenia udziału tailocyn w konkurencji międzybakteryjnej w warunkach naturalnych.

Publikacja A1

Pierwsza publikacja stanowi bardzo dobry punkt wyjścia dla całej rozprawy. Doktorant wraz ze współautorami po raz pierwszy szczegółowo scharakteryzował tailocynę typu R produkowaną przez *Dickeya dadantii* 3937, którą nazwano dickeyocyną P2D1. Zastosowanie transmisyjnej mikroskopii elektronowej i mikroskopii sił atomowych wykazało, że cząstki mają budowę typową dla kurczliwych tailocyn.

Analizy proteomiczne i genomowe umożliwiły identyfikację białek strukturalnych oraz około 22-kilobazowego klastra genowego kodującego P2D1. Wykazano jego wysokie podobieństwo do genów budujących ogonek bakteriofaga *Peduvirus* P2, przy jednoczesnym niewielkim podobieństwie do klastra kodującego carotovoricynę Er u *Pectobacterium carotovorum*. Wyniki te wskazują, że tailocyny występujące u przedstawicieli rodzajów *Dickeya* i *Pectobacterium* mogą wywodzić się z odmiennych linii fagowych.

P2D1 wykazywała aktywność wobec wybranych szczepów należących do różnych gatunków *Dickeya* oraz wobec *Musicola paradisiaca*, natomiast nie działała na badane szczepy *Pectobacterium* ani na pozostałe bakterie uwzględnione w panelu. Cząstki zachowywały aktywność w szerokim zakresie pH, temperatury i zasolenia, lecz były inaktywowane przez silnie kwaśne środowisko, wysoką temperaturę, zamrażanie oraz SDS. Wykazano również ich adsorpcję zarówno do żywych, jak i niezdolnych do wzrostu komórek szczepu wrażliwego oraz brak zależności produkcji P2D1 od funkcjonowania systemu sekrecji typu VI. W 24-godzinym teście nie stwierdzono ostrej toksyczności preparatu wobec *Caenorhabditis elegans*.

Za szczególnie wartościowe należy uznać połączenie obserwacji mikroskopowych, identyfikacji proteomicznej i analizy genomowej, które dostarczyło wielokierunkowych dowodów potwierdzających obecność funkcjonalnej tailocyny. Pewne ograniczenie interpretacyjne stanowi jednak wykorzystanie zmian OD₆₀₀ do oceny dynamiki zabijania, ponieważ parametr ten nie pozwala bezpośrednio określić liczby żywych komórek. Również brak toksyczności w krótkotrwałym teście na *C. elegans* potwierdza jedynie brak wykrywalnej ostrej toksyczności w zastosowanych warunkach, a nie całkowite bezpieczeństwo ekologiczne cząstek.

Publikacja A2

W drugiej publikacji rozwinięto badania nad regulacją i dynamiką produkcji P2D1. Wykazano zależność wydajności produkcji tailocyn od stężenia mitomycyny C, przy czym najwyższą aktywność preparatów uzyskano po zastosowaniu stężeń od 0,5 do 1,5 µg/ml. Analiza czasowa wykazała, że ekspresja genów kodujących białka tuby, pochwarki i włókna ogonkowego osiągała maksimum około dwóch godzin po indukcji, natomiast najwyższą aktywność tailocyn w supernatancie obserwowano po sześciu godzinach. Aktywność ta utrzymywała się następnie na zbliżonym poziomie do 24. godziny doświadczenia.

Ważnym wynikiem było wykazanie, że produkcja P2D1 może być stymulowana nie tylko przez mitomycynę C, lecz również przez cyprofloksacynę i norfloksacynę, oddziałujące na replikację i naprawę DNA, oraz przez nadtlenek wodoru. Najwyższy poziom indukcji przez H₂O₂ stwierdzono przy stężeniu 1 mM, natomiast wyższe stężenia ograniczały produkcję, prawdopodobnie w związku z silnym zahamowaniem żywotności i aktywności metabolicznej komórek. Nie wykazano natomiast istotnego wpływu rodzaju podłoża na podstawowy ani indukowany poziom aktywności P2D1.

Szczególnie interesujące jest wskazanie nadtlenu wodoru jako potencjalnie ekologicznie istotnego czynnika indukującego. Bakterie SRP są narażone na reaktywne formy tlenu podczas odpowiedzi obronnej rośliny, dlatego uzyskany wynik tworzy możliwe powiązanie między stresem oksydacyjnym towarzyszącym infekcji a produkcją tailocyn. Mocną stroną publikacji jest także równoległe prześledzenie ekspresji genów strukturalnych, aktywności tailocyn w supernatancie i zmian liczby komórek zdolnych do tworzenia kolonii.

Publikacja A3

W drugiej publikacji rozwinięto badania nad regulacją i dynamiką produkcji P2D1. Wykazano zależność wydajności produkcji tailocyn od stężenia mitomycyny C, przy czym najwyższą aktywność preparatów uzyskano po zastosowaniu stężeń od 0,5 do 1,5 µg/ml. Analiza czasowa wykazała, że ekspresja genów kodujących białka tuby, pochwarki i włókna ogonkowego osiągała maksimum około dwóch godzin po indukcji, natomiast najwyższą aktywność tailocyn w supernatancie obserwowano po sześciu godzinach. Aktywność ta utrzymywała się następnie na zbliżonym poziomie do 24. godziny doświadczenia.

Ważnym wynikiem było wykazanie, że produkcja P2D1 może być stymulowana nie tylko przez mitomycynę C, lecz również przez cyprofloksacynę i norfloksacynę, oddziałujące na replikację i naprawę DNA, oraz przez nadtlenek wodoru. Najwyższy poziom indukcji przez H₂O₂ stwierdzono przy stężeniu 1 mM, natomiast wyższe stężenia ograniczały produkcję, prawdopodobnie w związku z silnym zahamowaniem żywotności i aktywności metabolicznej komórek. Nie wykazano natomiast istotnego wpływu rodzaju podłoża na podstawowy ani indukowany poziom aktywności P2D1.

Szczególnie interesujące jest wskazanie nadtlenu wodoru jako potencjalnie ekologicznie istotnego czynnika indukującego. Bakterie SRP są narażone na reaktywne formy tlenu podczas odpowiedzi obronnej rośliny, dlatego uzyskany wynik tworzy możliwe powiązanie między stresem oksydacyjnym towarzyszącym infekcji a produkcją tailocyn. Mocną stroną publikacji jest także równoległe prześledzenie ekspresji genów strukturalnych, aktywności tailocyn w supernatancie i zmian liczby komórek zdolnych do tworzenia kolonii.

Publikacja A4

Czwarta publikacja stanowi wartościowe zwieńczenie cyklu i dostarcza najsilniejszych dowodów genetycznych na udział P2D1 w aktywności bójczej. Spośród 480 izolatów pozyskanych z gleby i ryzosfery w trzech lokalizacjach w Polsce zidentyfikowano dziewięć szczepów *Pseudomonas* wrażliwych na P2D1, reprezentujących kilka grup filogenetycznych, w tym izolaty spokrewnione z *P. germanica*, *P. tensinigenes* i *P. parakoreensis*. Wartości ANI wskazują, że część z nich może należeć do dotychczas nieopisanych linii na poziomie gatunku.

Sekwencjonowanie całogenomowe, analiza ANI i pangenomu oraz profilowanie BIOLOG wykazały różnorodność genomową i fenotypową izolatów. Obserwacje TEM potwierdziły przyłączanie P2D1 do komórek *Pseudomonas*. Kluczowe znaczenie miało skonstruowanie mutantów *D. dadantii* 3937 pozbawionych genów kodujących pochwę, tubę lub oba elementy tailocyny. Mutanty utraciły aktywność wobec wszystkich dziewięciu izolatów, natomiast komplementacja ją przywróciła, jednoznacznie potwierdzając zależność obserwowanego efektu od P2D1.

W testach na tkance ziemniaka sześć niepatogenicznych izolatów ograniczało macerację wywoływaną przez *D. dadantii*, wskazując na ich potencjał biokontrolny. Trzy pozostałe powodowały macerację plasterków, jednak w doświadczeniu na całych bulwach łagodną patogeniczność wykazał jedynie szczep MC6. P2D1 może zatem działać zarówno wobec potencjalnych antagonistów producenta, jak i bakterii wykorzystujących tę samą tkankę roślinną.

Publikacja rozszerza wiedzę o swoistości tailocyn, wykazując międzyrodzajową aktywność P2D1. Należy jednak uwzględnić, że część izolatów była niemal klonalna oraz że nie wykazano bezpośredniego wpływu P2D1 na ich liczebność lub wynik konkurencji w tkance roślinnej. Udowodniono więc zabijanie *Pseudomonas* w warunkach laboratoryjnych, natomiast znaczenie tego zjawiska *in planta* wymaga dalszych badań.

Podsumowując, wyniki przedstawione w czterech publikacjach tworzą spójny i wartościowy naukowo cykl. Rozprawa dostarcza przekonujących dowodów na występowanie, budowę, indukcję i aktywność bójczą tailocyn u bakterii SRP oraz wykazuje, że zakres działania P2D1 może przekraczać granice rodzaju. Najsilniej udokumentowane są wnioski dotyczące właściwości molekularnych i genomowych P2D1 oraz jej aktywności w warunkach laboratoryjnych.

6. Uwagi

Do najważniejszych ograniczeń metodologicznych i interpretacyjnych rozprawy należą:

(i) przedstawione wyniki przekonująco wykazują występowanie, indukcję, budowę i aktywność bójczą tailocyn w warunkach laboratoryjnych, natomiast nie dostarczają bezpośredniego dowodu, że tailocyny zwiększają dostosowanie producenta lub determinują wynik konkurencji w naturalnym środowisku albo podczas infekcji rośliny.

(ii) część oznaczeń aktywności tailocyn miała charakter półilościowy i opierała się na testach *spot assay*. Ponadto w publikacji A1 wykorzystano zmiany wartości OD₆₀₀ do oceny dynamiki

zabijania bakterii, chociaż parametr ten nie pozwala bezpośrednio określić liczby żywych komórek ani odróżnić komórek żywych od martwych lub uszkodzonych;

(iii) w publikacji A2 spadek liczby komórek zdolnych do tworzenia kolonii po zastosowaniu mitomycyny C powiązано z produkcją i uwalnianiem P2D1, jednak nie przeprowadzono w tym doświadczeniu porównania szczepu dzikiego z mutantem pozbawionym zdolności wytwarzania tailocyny;

(iv) w niektórych doświadczeniach liczba niezależnych powtórzeń biologicznych była ograniczona, natomiast większe wartości n uzyskiwano częściowo przez uwzględnianie powtórzeń technicznych.

Wskazane ograniczenia nie podważają głównych osiągnięć rozprawy ani jej **bardzo wysokiej wartości naukowej**.

Pytania do Doktoranta podczas obrony

1. Jakie doświadczenie należałoby przeprowadzić, aby bezpośrednio wykazać, że produkcja P2D1 zwiększa konkurencyjność lub dostosowanie *D. dadantii* podczas infekcji rośliny? Proszę uwzględnić dobór szczepów kontrolnych, sposób monitorowania liczebności konkurentów oraz właściwą jednostkę eksperymentalną.

2. W jaki sposób można eksperymentalnie rozdzielić bezpośredni wpływ mitomycyny C na przeżywalność komórek od lizy związanej z produkcją i uwalnianiem tailocyn? Jakiego wyniku należałoby oczekiwać dla szczepu dzikiego, mutantu pozbawionego P2D1 i szczepu skomplementowanego?

7. Ocena końcowa

Rozprawa doktorska mgr. Marcina Borowicza pt. „Ekologiczna rola tailocyn (cząstek przypominających ogonki fagowe) u bakterii pektynolitycznych z rodziny Pectobacteriaceae” stanowi spójne, oryginalne i wartościowe opracowanie naukowe. Podjęta problematyka jest aktualna i istotna dla rozwoju wiedzy o mechanizmach konkurencji międzybakteryjnej oraz funkcjonowaniu mikroorganizmów związanych z roślinami. Przedstawione badania pozwoliły między innymi na scharakteryzowanie pierwszej tailocyny typu R u *Dickeya dadantii*, określenie czynników i dynamiki jej produkcji, ocenę rozpowszechnienia klastrów tailocyn wśród bakterii z grupy Soft Rot Pectobacteriaceae oraz wykazanie aktywności P2D1 wobec odległych filogenetycznie izolatów *Pseudomonas*. Szczególną wartość poznawczą ma genetyczne potwierdzenie udziału P2D1 w obserwowanej aktywności bójczej z wykorzystaniem mutantów delecyjnych i komplementacji.

Rozprawa dokumentuje szeroką wiedzę teoretyczną Doktoranta, umiejętność formułowania i rozwiązywania problemów naukowych, właściwy dobór zróżnicowanych metod badawczych oraz zdolność do krytycznej interpretacji uzyskanych wyników. Cztery publikacje tworzą logicznie rozwijany cykl badawczy, a znaczący wkład własny Doktoranta, w tym pierwsze autorstwo trzech prac, został odpowiednio udokumentowany w oświadczeniach współautorów. Wskazane w recenzji ograniczenia nie podważają zasadniczych osiągnięć rozprawy ani jej wysokiej wartości naukowej.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr. Marcina Borowicza pt. „Ekologiczna rola tailocyn (cząstek przypominających ogonki fagowe) u bakterii pektynolitycznych z rodziny

Pectobacteriaceae” spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w obowiązujących przepisach i wnoszę o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie biotechnologia.

8. Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej

Biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy, jej spójność koncepcyjną, oryginalność przeprowadzonych badań, aktualność podjętej problematyki oraz ponadprzeciętny na etapie doktoratu dorobek publikacyjny Kandydata, **wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Marcina Borowicza.**

Podstawę wniosku stanowi przede wszystkim pierwsza szczegółowa charakterystyka funkcjonalnej tailocyny typu R produkowanej przez przedstawiciela rodzaju *Dickeya*, kompleksowe określenie właściwości strukturalnych, genetycznych i biologicznych P2D1 oraz wielopoziomowa analiza występowania i aktywności tailocyn wśród bakterii z grupy SRP. Szczególnie istotnym osiągnięciem jest wykazanie, że zakres aktywności P2D1 może przekraczać granice rodzaju i obejmować odległe filogenetycznie bakterie *Pseudomonas*, a następnie jednoznaczne potwierdzenie zależności tej aktywności od genów kodujących elementy strukturalne tailocyny poprzez zastosowanie mutantów delecyjnych i komplementacji genetycznej. Na wysoką ocenę zasługuje również połączenie metod mikrobiologicznych, mikroskopowych, proteomicznych, molekularnych, genomowych, bioinformatycznych i fitopatologicznych, które umożliwiło wszechstronną analizę badanego problemu.

Rozprawę oparto na czterech pracach opublikowanych w latach 2023–2026 w uznanych czasopismach międzynarodowych: *Frontiers in Microbiology*, *Scientific Reports*, *Molecular Ecology* i *ISME Communications*. W trzech z nich mgr Marcin Borowicz jest pierwszym autorem, a publikacje tworzą spójny i konsekwentnie rozwijany cykl - od charakterystyki pojedynczej cząstki, przez analizę mechanizmów jej produkcji i rozpowszechnienia, po ocenę aktywności międzyrodzajowej.

Na podkreślenie zasługuje również całkowity dorobek naukowy Kandydata przedstawiony w rozprawie, obejmujący sześć publikacji naukowych, w tym cztery prace pierwszoautorskie. Doktorant prezentował wyniki badań na konferencjach krajowych i międzynarodowych, wygłosił wykład na zaproszenie podczas Mini Symposium on Tailocins, a jego wystąpienia zostały uhonorowane nagrodami za najlepszą prezentację oraz najlepszy poster. Posiada także doświadczenie dydaktyczne obejmujące prowadzenie zajęć laboratoryjnych i konwersatoryjnych oraz opiekę nad studentami realizującymi indywidualne projekty badawcze.

O rosnącej samodzielności naukowej mgr. Marcina Borowicza świadczy również pozyskanie w charakterze kierownika grantu UGrants-start Uniwersytetu Gdańskiego oraz grantu obliczeniowego PLGrid, a także odbycie zagranicznych staży naukowych na Uniwersytecie w Oslo, Université Claude Bernard Lyon 1 oraz Sorbonne Université w Paryżu. Aktywność publikacyjna, konferencyjna, grantowa, dydaktyczna i międzynarodowa potwierdza konsekwentny rozwój warsztatu badawczego Doktoranta, jego znaczną samodzielność oraz bardzo dobre przygotowanie do dalszej pracy naukowej.

dr. Kryndakiewicz