

1 czerwca 2015 r.

Prof. dr hab. Piotr Sobiczewski

Recenzja pracy doktorskiej mgr Doroty Krzyżanowskiej  
pt. „Antagonizm szczepu *Pseudomonas* P482 względem bakteryjnych patogenów roślin  
z rodzajów *Pectobacterium* i *Dickeya* w warunkach *in vitro* i *in planta*”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska, wykonana pod kierunkiem Pani prof. UG dr hab. Sylwii Jafra w Katedrze Biotechnologii Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, jest obszernym, wielowątkowym opracowaniem badań nad mechanizmami interakcji między szczepem bakterii P482, a bakteriami pektynolitycznymi i fitopatogenicznym grzybem *Rhizoctonia solani*, zdolnościami tego szczepu w ochronie ziemniaka i cykorii przed mokrą zgnilizną oraz nad ustaleniem pozycji taksonomicznej szczepu w oparciu o analizę DNA. Do badań włączono szczepy referencyjne pochodzące z zagranicznych i polskich kolekcji kultur bakterii, w tym szczepy znajdujące się w kolekcji macierzystej Katedry.

Recenzowana praca zawiera wszystkie formalnie wymagane dla rozprawy doktorskiej części, tzn. wstęp, zawierający obszerny przegląd literatury, jasno sformułowany cel, materiały i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie oraz abstrakt w jęz. angielskim. Praca liczy 208 stron, w tym 21 tabel i 22 rysunki obejmujące fotografie i wykresy. W różnych miejscach pracy Doktorantka powołuje się na ponad 400 pozycji literatury zestawionych na końcu pracy. Praca jest dziełem ważnym, ponieważ niewiele jest informacji na temat możliwych czynników warunkujących aktywność pożytecznych bakterii w ochronie roślin przed chorobami, ujętych w tak kompleksowym zakresie i szerokim wymiarze.

Wykonane i opisane przez Autorkę badania stanowią na ogół dobrze uzasadnioną odpowiedź na postawione cele pracy, a jej poszczególne rozdziały są właściwie zredagowane. W obszernym wstępie obejmującym 24 strony wyróżniono 6 podrozdziałów, których zawartość koresponduje z przedmiotem badań. Wstęp wskazuje na dobrą znajomość przez Doktorantkę nie tylko zagadnień ściśle związanych z tematem rozprawy, ale także zagadnieniami dotyczącymi szerzej rozumianej biochemii mikroorganizmów i możliwych interakcji między nimi, zarówno w warunkach *in vitro*, jak i w roślinach. Przedstawiony przegląd jest dobrym uzasadnieniem podjętego celu, realizowanego w kolejnych etapach pracy.

W rozdziale ‘Materiały’ Autorka przedstawiła wykorzystane w badaniach szczepy bakterii patogenicznych i niepatogenicznych, a także patogena grzybowego, wykaz plazmidów, oligonukleotydów, pożywek, odczynników, aparatury i innych narzędzi oraz

programów wykorzystanych w trakcie badań. W części dotyczącej zastosowanych metod szczegółowo opisała każdą z nich, w tym metody użyte w doświadczeniach z roślinami i w glebie. Przy większości zamieszczonych pożywek oraz metod brak jest danych bibliograficznych, co stanowiłoby wartościowe dopełnienie tej części rozdziału. Czytelnik może czasem odnieść wrażenie, że to Pani Doktorantka była ich autorem i wtedy tym bardziej należałoby to zaznaczyć.

Pierwszy etap badań został poświęcony określeniu aktywności przeciwdrobnoustrojowej szczepu P482 w warunkach *in vitro*. Autorka określiła zdolność szczepu do hamowania wzrostu 9 szczepów bakterii pektynolitycznych, w tym 3 z rodzaju *Dickeya* i 6 z rodzaju *Pectobacterium*. Do badań włączono szczep 762 bakterii *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, sprawcy raka bakteryjnego drzew owocowych. Przy omówieniu wyników Autorka podała, że zastosowała dwa niezależne powtórzenia biologiczne. Analizując rysunek 3 (str. 76) zastanawiająca jest wysoka zmienność między tymi powtórzeniami. Poza tym brak jest informacji o istotności różnic dot. szczepów Pcc1 i Pcc2. Natomiast na rys. 4 pokazano ograniczenie wzrostu grzyba *Rhizoctonia solani*. Brak jest informacji odnośnie liczby powtórzeń i uzyskanych wyników w okresie wspólnej hodowli obu mikroorganizmów przez 96 h. Wyniki tej części pracy, wskazujące na zdolność hamowania wzrostu patogenów roślin na sztucznych pożywkach, stanowiły podstawę do przeprowadzenia obszernych badań mających na celu wykazanie dlaczego P482 hamuje wzrost patogenów i chroni rośliny przed chorobami.

Dalsze badania były poświęcone analizie genomu szczepu P482 pod kątem określenia możliwych mechanizmów związanych z jego antagonizmem wobec wymienionych patogenów roślin. Znaczna część tych badań dotyczyła antybiozy, a w tym określenia podłoża genetycznego potencjalnych substancji bakterio- i grzybobójczych wytwarzanych przez P482. Z zastosowaniem odpowiednich programów przeprowadzono przeszukanie genomu na obecność genów odpowiedzialnych za syntezę 16 metabolitów wtórnych, znanych z literatury z aktywności toksycznej wobec grzybów i bakterii, a wytwarzanych przez bakterie rodzaju *Pseudomonas*, do którego P482 został zaklasyfikowany. Analiza pozwoliła na wykluczenie 15 z nich, a to: 2,4-DAPG, 2,5-dialkylrezorcynolu, 2-heksylo-5propylo rezorcyny, chinologów, fenazy, ksantolizyny, masetolidów, mupirocyny, orfamidów, pioluteryny, pyrronitryny, syringopeptyny, wiskozyny i ryzoksyny. Stwierdzono jednak obecność genów kodujących wytwarzanie cyjanowodoru, związku o silnym działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Mgr Krzyżanowska przeprowadziła także analizę ukierunkowaną na wykrycie genów kodujących 5 typów sideroforów (achromobaktynę, chinolobaktynę/tiochinolobaktynę, piowerdynę, pseudomoninę i pyocheminę), 2 biosurfaktantów (artrofaktyny i putisolwiny) oraz 2 związków o nierozpoznanej dotychczas funkcji – paerucumaryny i pseudowerdyny, wykazując obecność tylko genów kodujących wytwarzanie związków z grupy piowerdyny.

Wykorzystując program antiSMASH 2.0 przeszukano ponownie sekwencje genomu P482, co doprowadziło do wytypowania 6 klastrów genowych potencjalnie odpowiedzialnych za syntezę metabolitów wtórnych lub bakteriocyn. Ponadto uznano, że 2 klastry kodujące kompleksy typu NRPS (syntetazy enzymów nierybosomalnych) mogą być potencjalnie zaangażowane w syntezę sideroforu piowerdyny. Należy dodać, że przeszukiwanie rozszerzone w oparciu o bazę danych Pfam, charakteryzujące się większym stopniem

‘dowolności’ wykazało obecność aż 18 dodatkowych klastrów potencjalnie zaangażowanych w syntezę metabolitów wtórnych. Taki sposób typowania miał jednak charakter teoretyczny. Program nie podaje bowiem informacji na temat kompleksowego oddziaływania produktów genów. Należy jednak podkreślić, że przeprowadzona analiza może być bardzo pomocna we wskazaniu celowości kontynuacji badań ukierunkowanych na określenie rzeczywistej funkcji genów i możliwego oddziaływania ich produktów, zarówno *in vitro*, jak i *in planta*.

W następnym etapie badań przeprowadzono analizę filogenetyczną na podstawie średniego podobieństwa nukleotydów (ANI – Average Nucleotide Identity) między genomami P482 i spokrewnionych szczepów rodzaju *Pseudomonas*. Wykorzystano sekwencje genów 16S rRNA i genów metabolizmu podstawowego (*gyrB*, *rpoB* i *rpoD*) poddanych analizie MLSA (MultiLocus Sequence Analysis). Badania wykazały, że najbliższym spokrewnionym z P482 jest szczep HYS gatunku *Pseudomonas donghuensis*, wyizolowany z wód jeziora w Chinach. Wartość ANI dla obu szczepów wyniosła 99,24% i może stanowić podstawę do zaklasyfikowania P482 do tego gatunku. Autorka słusznie wskazuje jednak na konieczność poparcia tych wyników badaniami cech fenotypowych bakterii z włączeniem szczepu referencyjnego.

Następnie porównano aktywności P482 i 10 najbliższych spokrewnionych szczepów z rodzaju *Pseudomonas* w ograniczaniu wzrostu *Dickeya solani* wykazując, że jedynie wspomniany już szczep HYS *P. donghuensis* jest podobny w tym względzie do P482. Autorka przedstawiła uzyskane wyniki na rys. 6 (str. 102) podając, że doświadczenie wykonała w 2 ‘powtórzeniach technicznych’. A co oznacza ten termin w porównaniu do wcześniej użytego ‘powtórzenie biologiczne’? Podobnie jak w przypadku rys. 3 poproszę o komentarz na temat zróżnicowania w powtórzeniach i dużych odchylen standardowych. Wyciągnięto wnioski, że aktywność przeciwbakteryjna, charakterystyczna dla P482 i HYS jest warunkowana obecnością w genomach szczepów unikatowego genu lub grupy genów nie występujących w genomach spokrewnionych gatunków z rodzaju *Pseudomonas*. Ostatecznie wybrano 5 genów kandydatów szczepu P482 do badań nad ich możliwym udziałem w aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz dodatkowo 18 klastrów, mających jednak znaczenie hipotetyczne. Wytypowane geny poddano inaktywacji na drodze mutagenyzy ukierunkowanej, a następnie zweryfikowano zdolność utworzonych mutantów do hamowania wzrostu 10 szczepów patogenów bakteryjnych. Stwierdzono, że tylko P482  $\Delta$ 2023 wykazywał słabszą zdolność hamowania wzrostu każdego z testowanych patogenów. Mutanta tego charakteryzowało także nieco słabsze tempo wzrostu w porównaniu ze szczepem dzikim. Mutanty przebadano również pod kątem zdolności do wytwarzania sideroforów na podłożu błękitnym stwierdzając, że dwa z nich posiadały obniżoną zdolność. Pozwoliło to na wyciągnięcie wniosku, że P482 produkuje poza piowerdyną również inny lub inne nierozpoznane jeszcze siderofory. Warto podkreślić, że włączony do badań mutant transpozony P482 Tn5, niezdolny do hamowania wzrostu *Dickeya solani*, wykazał wysoką aktywność w wytwarzaniu sideroforów.

Uważam, że bardzo ważnym zagadnieniem badawczym podjętym w przedstawionej pracy doktorskiej, zwłaszcza z aplikacyjnego punktu widzenia, było określenie zdolności P482 do ochrony roślin przed bakteryjną mokrą zgnilizną. Wykazano, że szczep ten chronił bulwy ziemniaka przed chorobą, jednakże wywoływaną nie przez każdy szczep bakterii pektynolitycznych. P482 nie zabezpieczał całkowicie przed infekcją, ale ograniczał rozwój

choroby powodowanej przez wszystkie 6 szczepów *Pectobacterium* w ponad 50%. Okazał się natomiast nieskuteczny przeciwko zgniliznie powodowanej przez bakterie z rodzaju *Dickeya*. Podobny w założeniu test przeprowadzono na liściach cykorii uzyskując odmienne wyniki. P482 skutecznie ograniczał rozwój mokrej zgnilizny na cykorii. Tu chciałbym zapytać o zasadę metody zastosowanej w doświadczeniu, tzn. użycie mieszaniny bakterii szczepu patogenicznego i P482, co oczywiście nie jest błędem. Ale w warunkach naturalnych chodziłoby bardziej o ochronę przed infekcją (lub chorobą), która zwykle nie następuje jednocześnie z traktowaniem ochronnym. Zastosowanie czynnika biologicznej ochrony wcześniej daje większe szanse m.in. adaptacji do środowiska, co może przełożyć się na zwiększenie skuteczności. Drugim aspektem jest stosunkowo krótki czas trwania testu 38 lub 48 godzin. Uzyskane wyniki wskazują na brak swoistego rodzaju uniwersalności w zdolnościach ochronnych P482 na różnych roślinach, ale inspirują do szerszej refleksji na temat roli różnych czynników mogących o tym decydować, w tym znaczenia i przydatności w praktyce badań *in vitro*. Poproszę Panią Doktorantkę o komentarz na ten temat z uwzględnieniem możliwych mechanizmów antagonizmu między mikroorganizmami. Mam też pytanie odnośnie metodyki badań. W opisie na stronie 70 Autorka podaje, że doświadczenie przeprowadziła na całych bulwach ziemniaka, natomiast w opisie wyników na stronie 116 zamieściła informację, że wykonała je na plastrach bulw powołując się na swoją publikację (Krzyżanowska i in., 2012). Uważam, że niezależnie od wcześniejszego opublikowania wyników, co jest słuszne, w pracy doktorskiej powinna być opisana, przynajmniej skrótowo, zastosowana metoda bez konieczności zagładania do publikacji. Tekst pracy doktorskiej powinien być spójny i zrozumiały jako całość.

W kontekście wyników uzyskanych z doświadczeń na ziemniaku i cykorii za celowe uważam podjęcie kolejnego wątku badań nad żywotnością bakterii w sokach, a raczej filtratach (proponuję rozważenie zmiany nazwy), bardziej lub mniej rozcieńczonych, otrzymanych z bulw ziemniaka i główek cykorii. Niezależnie od rozcieńczenia filtratu zaobserwowano silną fluorescencję bakterii P482 w filtracie z bulw ziemniaka, nie występującą jednak w filtracie z cykorii. Udowodniono, że różnice te są związane z różnym wytwarzaniem fluorescencyjnego sideroforu z grupy piowerdyn. W dodatkowych badaniach, poświęconych analizie supernatantów pochodzących wykazano, że P482 produkuje więcej sideroforów podczas wzrostu w filtracie z ziemniaka niż z cykorii. Ponadto stwierdzono, że jednym z czynników warunkujących ich wytwarzanie jest odczyn środowiska. Okazało się, że P482 powodował alkalizację filtratu z ziemniaka (końcowe pH wynosiło 7,5), ale zakwaszenie filtratu z liści cykorii (końcowe pH wynosiło 4,5). Jest to bardzo ważna i cenna informacja wyjaśniająca, przynajmniej częściowo, znaczenie podłoża (środowiska) w interakcjach między mikroorganizmami zasiedlającymi ten sam biotop. Doktorantka uważa, że obniżenie pH skutkowało zwiększeniem dostępności jonów żelaza w filtracie z cykorii, co było głównym czynnikiem warunkującym niską produkcję sideroforów (w tym piowerdyny) w podłożu hodowlanym. Dalsza analiza doprowadziła do przypuszczenia, że P482 produkuje metabolit, którego akumulacja prowadzi do zakwaszenia płynu hodowlanego, wykazując jednocześnie, że głównym kwasem organicznym produkowanym przez P482 w soku z cykorii jest kwas glukonowy. Tu cenna byłaby też informacja dotycząca liczebności bakterii w obu środowiskach, ich przeżywalności i ewentualnemu rozmnażaniu się. Proszę też o wypowiedź na temat możliwego obniżenia pH przez antagonistę w strefie zahamowania wzrostu bakterii

patogenicznych na pożywce mikrobiologicznej z agarem oraz o opinię dotyczącą wpływu środowiska na ekspresję genów związanych z antagonizmem, czy nawet samą antybiozą, między bakteriami.

W kolejnym etapie badań Doktorantka skonstruowała mutantą P482 z inaktywowanym genem *gcd* kodującym PQQ-zależną dehydrogenazę glukozy i odpowiedzialnym za produkcję kwasu glukonowego. Mutant ten nie był zdolny do zakwaszania filtratu z cykorii w porównaniu ze szczepem dzikim, ale go alkalizował. Nie różnił się od tego szczepu co do tempa wzrostu, zdolności do hamowania wzrostu patogenów bakteryjnych oraz zdolności do produkcji sideroforów z grupy piowerdyn. Natomiast wytwarzał mniej sideroforów na podłożu błękitnym. W doświadczeniu na bulwach ziemniaka stwierdzono, że mutant z inaktywowanym genem *gcd*, podobnie jak szczep dziki, nie wykazał zdolności ochronnej przed mokrą zgnilizną powodowaną przez *Dickeya solani*. Natomiast na liściach cykorii wykazał słabsze, chociaż nieistotne statystycznie, zdolności ochronne w porównaniu do szczepu dzikiego. Stąd wniosek, że wytwarzanie kwasu glukonowego w pewnym stopniu zwiększa zdolności ochronne szczepu, ale nie jest to jedyny czynnik je warunkujący.

W dalszej części badań poświęconych P482 jako potencjalnemu czynnikiowi biologicznej ochrony roślin Autorka przeszukała genom szczepu pod kątem obecności genów kodujących 3 białka mogące mieć związek z chemotaksją oraz geny, których produkty mogłyby być związane z syntezą i funkcjonowaniem wici bakterii. Obie te cechy u bakterii są ważne w kontekście skuteczności biologicznej ochrony. Wykorzystując odpowiednie programy wykryła 43 takie geny. Jednak, aby potwierdzić ich faktyczne znaczenie potrzebne byłyby dalsze badania *in situ*. Ponadto zainteresowała się możliwością obecności genów kodujących chitynazę i egzoenzym proteolityczny AprA, co ma znaczenie w przypadku biologicznej ochrony roślin przed chorobami powodowanymi przez grzyby, a także genów warunkujących syntezę trzech toksyn owadobójczych. Ten ostatni wątek badawczy nie ma wprawdzie związku z chorobami roślin, ale stanowi przykład ambitnych dążeń mgr Krzyżanowskiej do wykazania możliwie szerokiego spektrum aktywności P482. Przeprowadzone badania dały wynik negatywny, ale w przypadku enzymów rozkładających ścianę komórkową grzybów, geny takie znaleziono.

Na uwagę zasługuje jeszcze jeden wątek badawczy pracy, a mianowicie analiza genomu pod kątem obecności genów kodujących białka związane z regulacją ekspresji genów. W genomie P482 odnaleziono homologi genów kodujących wszystkie białka szlaku transdukcji sygnału Gac/Rsm, ale nie znaleziono żadnej z trzech cząsteczek sRNA, które mogłyby być zaangażowane w ten szlak regulacji. Z poznawczego punktu widzenia istotne jest także, że w genomie szczepu nie wykryto genów kodujących syntazę cząsteczek sygnałowych typu AHL, co może sugerować, że szczep ten nie wykorzystuje systemu Quorum Sensing opartego na własnych AHL do regulacji swojego metabolizmu.

Ostatnim zagadnieniem przedstawionym w recenzowanej pracy była kolonizacja korzeni ziemniaka przez P482. W doświadczeniach wykorzystano pochodną szczepu oporną na rifampicynę oraz konstrukt z genem zielonej fluorescencji (P481 GFP). Bulwy ziemniaka sztucznie kolonizowano zawiesinami wymienionych bakterii o stężeniu  $10^8$  jtk/ml (a nie cfu) zawieszonych w karboksymetylocelulozie. Bulwy posadzono do doniczek z glebą pobraną z pola i po 3 tygodniach określano liczbę bakterii na korzeniach. Oznacza to, że badano

obecność bakterii na korzeniach wyrosłych z bulw traktowanych bakteriami. Jeśli chodzi o powtórzenia, to w tym przypadku użyto trzeciego terminu, mianowicie 'powtórzenia eksperymentalne'. O ile w opisie metody (str. 73) jest mowa o pobraniu korzeni ziemniaka do badań, to w opisie wyników Autorka mówi o ryzosferze podając, że jest to korzeń z przylegającą do niego glebą. Pytanie: a jaka jest właściwa definicja ryzosfery i co to jest ryzoplana? Wyniki podano jako logarytm cfu (powinno być jtk) na gram homogenatu. Uważam, że powinny tu być podane konkretne liczby. Brak jest informacji o analizie statystycznej. Podane wartości wskazują na dość dobrą przeżywalność bakterii, co pozwala wnioskować o ich przydatności z praktycznego punktu widzenia. Obecność bakterii w ryzoplaniu Pani Doktorantka potwierdziła obserwacjami z wykorzystaniem mikroskopu konfokalnego, wykazując, że rozmieszczenie ich skupisk było nierównomierne i nieregularne. Powstaje jednak pytanie o przeżywalność bakterii na bulwach, bo przecież na ich ochronie przed patogenami potencjalnie zasiedlającymi glebę najbardziej zależy rolnikowi.

Z zainteresowaniem przeczytałem 'Dyskusję' opracowaną w oparciu o wyniki badań własnych i dostępne dane z najnowszej literatury przedmiotu. Jest to rozdział obszerny, obejmuje 35 stron, może niektóre jego fragmenty mogłyby być przeniesione do rozdziału 'Wstęp'. Czytanie rozdziału ułatwił jego podział na podrozdziały odpowiadające poszczególnym etapom badań. Autorka podjęła w dyskusji wszystkie zawarte w pracy wyniki analizując je bardzo szczegółowo, co świadczy o dużej wiedzy zarówno z zakresu mikrobiologii ogólnej, jak i molekularnej oraz biochemii. Na podkreślenie zasługuje rozważenie problemów wiążących się z uzyskanymi wynikami z różnych punktów widzenia, ze wskazaniem możliwej aktywności produktów genów wykrytych na drodze analizy *in silico*. Jednocześnie Autorka z pełnym przekonaniem wskazała celowość kontynuacji badań w celu wyjaśnienia zagadnień, których nie dało się jednoznacznie rozwiązać lub wytłumaczyć. Dużym problemem, wymagającym specjalnej uwagi, jest porównywanie i przeniesienie wyników badań przeprowadzonych w warunkach *in vitro* w układzie modelowym i z wykorzystaniem metod bioinformatycznych z tymi, które uzyskuje się na roślinie czy w glebie, gdzie występuje cały szereg różnych czynników modyfikujących model. Na podkreślenie zasługuje determinacja Doktorantki i oczywiście Jej Promotora do rozpracowania wielu różnych czynników mogących wpływać na interakcje między bakteriami, w tym takich, które mogą mieć znaczenie *in planta*. Przedstawiona dyskusja wskazuje na znaczenie podjętego problemu badawczego, a jednocześnie udowadnia, jak dużo jest jeszcze do zrobienia. Cytat przedstawiony na początku pracy pod zdjęciem Autorki znajduje tu swoje potwierdzenie. Powtórzę jego polskie tłumaczenie „Wyszedłszy z zamętu, dochodzimy do zamętu na wyższym poziomie”.

Przeprowadzone badania miały generalnie charakter podstawowy, ale podjęte wątki na roślinach mogą stanowić wzorzec ich ukierunkowania na zastosowanie w praktyce. Na podkreślenie zasługuje znajomość przez Doktorantkę nowoczesnych metod badawczych i ich szerokie zastosowanie w badaniach. Chciałbym podkreślić staranność, jaką wykazała mgr Krzyżanowska w przedstawieniu i dyskusji wyników oraz doborze cytowanej literatury.

Przy pisaniu pracy Doktorantka nie ustrzegła się pewnych nieścisłości językowych, na niektóre z nich chciałbym zwrócić uwagę (nie będę tego odczytywał).

- w wielu miejscach pracy odmieniane jest słowo patogen, a w drugim przypadku 'patogenu', co jest niepoprawne, bowiem źródłosłów nie pochodzi od genu, będącego czynnikiem

nieożywionym, a od czynnika infekcyjnego, co oznacza, że powinno być patogena, co również tradycyjnie stosujemy od lat,

- 'Inokulacja podłoży' (str. 67 i w paru innych miejscach) – termin inokulacja dotyczy roślin, a nie pożywek, czy podłoży,
- 'mikroflora' – określenie dość często stosowane w odniesieniu do populacji różnych drobnoustrojów zasiedlających określone środowisko; obecnie uważane za niepoprawne, ponieważ drobnoustroje nie należą do świata roślin,
- cfu – po polsku jtk
- str. 30: metody ich kontroli – powinno być 'metody ochrony roślin'
- str. 60: inkubuje się bakterie, a nie posiewy
- str. 177, 5 w. od dołu: nie roztworem a zawiesiną
- miano bakterii: mam wątpliwość co do poprawności użycia tego terminu.

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując swoją ocenę rozprawy doktorskiej mgr Doroty Krzyżanowskiej uważam że jest to praca wartościowa. Spełnia ona wszelkie formalne wymagania określone w artykule 13 Ustawy z 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., Nr 65, poz. 595) z późniejszymi zmianami, a także inne zwyczajowo przyjęte kryteria oceny rozpraw doktorskich. Wnoszę do Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pani mgr Doroty Krzyżanowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Piotr Jolincewicz*