ZAKŁAD EKOLOGII MIKROORGANIZMÓW
I BIOTECHNOLOGII ŚRODOWISKOWEJ
INSTYTUT BOTANIKI, WYDZIAŁ BIOLOGII
ul. Żwirki i Wigury 101 Tel. +48 2255 26 654
02-089 Warszawa chrost@biol.uw.edu.pl



**OCENA**
**osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej Dr Dariusza Dzigi w związku z postępowaniem habilitacyjnym**

**Dr Dariusz Dziga**, adiunkt w Zakładzie Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin, Uniwersytetu Jagiellońskiego, ubiegając się o nadanie stopnia doktora habilitowanego proponuje jako osiągnięcie naukowe jednotematyczny cykl 6 publikacji pt. *„Mikrobiologiczna degradacja toksyn sinicowych mikrocystyn"*. W skład cyklu prac wchodzi 5 oryginalnych publikacji eksperymentalnych oraz 1 praca przeglądowa, wszystkie opublikowane w języku angielskim w czasopismach indeksowanych przez ISI Web of Science. Publikacje tworzące osiągnięcie naukowe dr Dariusza Dzigi zostały opublikowane w okresie: 2012-2016 r., ich sumaryczny Impact Factor wynosi 19,222, a prace stanowiące osiągnięcie naukowe były dotychczas w sumie cytowane 38 razy (stan na dzień 04.05.2016).

## 1. Ocena osiągnięcia naukowego

Od początku XXI wieku, zarówno w Polsce jak i w skali globalnej, obserwuje się gwałtowny wzrost ekspansji cyjanobakterii (sinic) w wodach śródlądowych oraz morskich. Szereg gatunków ciepłolubnych sinic uprzednio zasiedlających wody subtropikalne przekroczyło bariery geograficznego zasięgu występowania i obecnie coraz częściej występuje w wodach strefy umiarkowanej na obydwu półkulach ziemskich. Ekspansji sinic w skali globalnej sprzyjają gwałtownie postępujące antropogeniczne zanieczyszczenia i degradacja ekologiczna (hypereutrofizacja) wód powierzchniowych, wzrost promieniowania UV docierającego pod powierzchnię zbiorników wodnych, oraz wzrost ich temperatury (globalne ocieplenie). Te trzy podstawowe czynniki środowiskowe determinujące rozwój mikroorganizmów wodnych w szczególności stymulują wzrost i masowy rozwój cyjanobakterii coraz częściej tworzących masowe zakwity sinicowe w wodach naturalnych. W składzie fitoplanktonu wód hypereutroficznych sinice nagminnie stanowią główny dominujący takson, którego liczebność komórek i/lub biomasa przekraczają w zakwitach ponad 90% składu fitoplanktonu.

W składzie fitoplanktonu występującego w wodach powierzchniowych strefy umiarkowanej może występować kilka-kilkanaście szczepów cyjanobakterii zdolnych do wytwarzania silnie toksycznych metabolitów wtórnych o charakterze cyklicznych heptapeptydów pochodzenia nierybosomalnego, wśród których do najczęściej skażających wody śródlądowe, przybrzeżne i morskie należą mikrocystyny, nodularyny i ostatnio raportowana w polskich wodach śródlądowych, a dawniej nie spotykana, cylindrospermina. Skutki zatruć toksynami sinicowymi (opisywane w literaturze od ponad 100 lat) są obecnie dosyć powszechnie znane i przypisuje się tym metabolitom sinicowym w zależności od chemicznej natury cyklicznego heptapeptydu właściwości hepatotoksyczne, neurotoksyczne, dermatotoksyczne, z których kilka ma zdolności karcinogenne. Fizjologicznie toksyny sinicowe gromadzone są wewnątrzkomórkowo a wydostają się do środowiska wodnego na skutek lizy i rozpadu komórek cyjanobakterii przez cyjanofagi, mechanicznego uszkodzenia podczas wyjadania przez zooplankton lub ryby.

Zbiornik wodny skażony toksynami sinicowymi nie tylko traci znaczną część swoich walorów ekologicznych, rekreacyjnych i gospodarczych ale stanowi wręcz zagrożenie sanitarne i zdrowotne dla zwierząt i użytkowników wód. W przypadku gdy dotyczy to zbiornika będącego źródłem wody pitnej oznacza całkowitą jego nieprzydatność do bezpośredniego spożycia wody i wymaga kosztownych ekonomicznie zabiegów oczyszczania i uzdatniania wody do celów konsumpcyjnych. Poznanie biochemiczno-mikrobiologicznych mechanizmów rozkładu i transformacji oraz detoksykacji cyklicznych heptapeptydów cyjanobakterii stanowi jedno z bardzo ważnych współczesnych zagadnień naukowo-badawczych o dużym potencjale aplikacyjnym.

**Osiągnięcie naukowe dr Dariusza Dzigi doskonale wpisuje się w ten nurt współczesnych i bardzo aktualnych zadań badawczych dotyczących poznania biochemicznych szlaków i produktów rozkładu mikrocystyny, roli bakterii i ich enzymów w linearyzacji cyklicznych heptapeptydów i dalszej hydrolizie, a także podejmuje udane próby praktycznego zastosowania pozyskanej wiedzy do konstrukcji systemu bioreaktora detoksykacji wody z mikrocystyn sinicowych.**

Autor podzielił swoje osiągnięcie naukowe na 4 główne grupy zagadnień badawczych, które w sposób rzetelny, w drodze dobrze zaprojektowanych układów metodyczno-eksperymentalnych uzyskał przekonywujące wyniki badań, przedstawił w postaci pięciu publikacji eksperymentalnych. W sposób dobrze udokumentowany, logicznie bardzo konsekwentnie, dr Dariusz Dziga przejrzyście opisał główne „kamienie milowe" swojego osiągnięcia naukowego: (1) Izolacja, oczyszczanie białek enzymatycznych klasteru *mlr* oraz ich charakterystyka biochemiczna; (2) Nowe produkty rozkładu oraz modyfikacje szlaku rozkładu mikrocystyn; (3) Weryfikacja hipotezy enzymatycznej degradacji mikrocystyn przez bakterie probiotyczne; (4) Konstrukcja bioreaktorów i eksperymentalne sprawdzenie ich efektywności w usuwaniu mikrocystyn. Założone **przez Autora główne zagadnienia i hipotezy badawcze zostały w należyty sposób przetestowane i zweryfikowane w toku dobrze zaplanowanych eksperymentów laboratoryjnych z użyciem nowoczesnych i adekwatnych metod badawczych (biologii molekularnej, biochemii, mikrobiologii).**

Do najważniejszych osiągnięć naukowych zaliczyć należy: (a) poznanie roli enzymów klastera *mlr* (*mlrA, mlrB, mlrC*) w procesie degradacji mikrocystyn, charakterystyka kinetyki biochemicznej enzymów odpowiedzialnych za reakcje transformacji i rozkładu mikrocystyn, oraz opisanie molekularno-genetycznych mechanizmów ekspresji białek *mlr*; (b) zaproponowanie nowego schematu biochemicznych szlaków degradacji mikrocystyn; (c) wykazanie zdolności ektoenzymów wytwarzanych przez *Lactobacillus rhamnosus* i *Bifidobacterium longum* do degradacji mikrocystyn, odmiennego od szlaku degradacji białek typu *mlr*; (d) konstrukcja bioreaktora w oparciu o bakterie o wysokiej ekspresji enzymów *mlrA* immobilizowanych w algininie do oczyszczania wody z mikrocystyn i eksperymentalne wykazanie jego przydatności w praktyce technologii uzdatniania wody pitnej. **Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dra Dariusza Dzigi zawiera szereg nowych i niezwykle cennych, nie opisanych uprzednio w literaturze światowej, wyników badań i informacji na temat molekularno-biochemicznych mechanizmów rozkładu i transformacji toksyn sinicowych – mikrocystyn oraz mikrobiologii bakterii zdolnych do tych procesów i przemian. Na szczególne uznanie zasługują także próby wykorzystania przez Autora wyników badań podstawowych do celów aplikacyjnych w technologii uzdatniania wody pitnej.**

## 2. Ocena istotnej aktywności naukowej dra Dariusza Dzigi

Dr Dariusz Dziga jest doświadczonym naukowcem od wielu lat realizującym samodzielnie lub w zespole szereg projektów badań naukowych w kategorii badań podstawowych. Umiejętność organizacji własnego zespołu naukowego oraz współpraca z zagranicznymi zespołami badawczymi zaowocowała wieloma cennymi naukowo publikacjami w renomowanych międzynarodowych wydawnictwach naukowych. Dr Dariusz Dziga jest współautorem 26 publikacji w recenzowanych czasopismach naukowych, z czego 23 prace indeksowane są w systemie ISI Web of Science. We wszystkich tych publikacjach, wg. oświadczeń ich współautorów, dr D. Dziga wniósł zasadniczy wkład twórczy i badawczy w ich powstanie.

W latach 2000 – 2016 dr Dariusz Dziga był kierownikiem 8 projektów i głównym wykonawcą 2 projektów badawczych finansowanych przez krajowe (KBN, NCN, MPWiK Kraków, Uniwersytet Jagielloński) oraz zagraniczne (Szwecja) instytucje finansujące badania naukowe. Projekty te mieściły się w obszarze głównych kierunków badań nad występowaniem i ekofizjologią cyjanobakterii oraz toksycznych metabolitów przez nie wytwarzanych. Do najważniejszych zaliczyć należy: (i) monitoring występowania toksyn sinicowych oraz ekologia toksycznych sinic w ekosystemach wodnych; (ii) biochemia i toksykologia metabolitów cyjanobakterii; (iii) poszukiwanie wydajnych metod degradacji i usuwania toksyn cyjanobakterii w technologii uzdatniania wody pitnej oraz w naturalnych zbiornikach wodnych.

Dr Dariusz Dziga jest jednym z pionierskich badaczy krajowych, którzy wykazali obecność nieznanej do tej pory w polskich wodach naturalnych toksyny sinicowej – cylindrosperminy, a Jego ostatnio opublikowana praca w 2016 r. dotyczy izolacji i charakterystyki biochemiczno-genetycznej szczepu bakterii *Aeromonas* sp. zdolnej do degradacji cylidrosperminy[1]. Publikacja ta jak dotąd jest jedyną w Polsce i jedną z nielicznych w świecie, które dokumentują nabytą zdolność niektórych bakterii zassiedlających wody powierzchniowe do rozkładu cylidrosperminy podczas występowania cyjanobakterii z rodzaju *Cylidrospermopsis* i *Aphanizomenon* wytwarzających te toksyny.

Aktualnie prowadzone badania naukowe dr D. Dzigi i Jego zespołu naukowego są realizowane w ramach dwóch projektach badawczych OPUS finansowanych przez NCN. Jeden z nich dotyczy wykorzystania bakterii modyfikowanych genetycznie do usuwania mikrocystyn w bioreaktorach. W ramach tego projektu prowadzone są badania nad uzyskaniem wysokiej ekspresji białka enzymatycznego mikrocystynazy *mlrA* docelowo zastosowanej w bioreaktorze do rozkładu mikrocystyny. Celem drugiego projektu jest poznanie mechanizmów alternatywnego szlaku biodegradacji toksyn sinicowych: cylindrosperminy i mikrocystyny. W ramach tego projektu zamiarem dr Dzigi jest pozyskanie szczepów zdolnych do degradacji badanych toksyn, identyfikacja filogenetyczna izolatów, oraz rozpoznanie genów i enzymów odpowiedzialnych za procesy transformacji i degradacji toksycznych heptapeptydów sinicowych wraz z identyfikacją produktów przemian pośrednich. Reasumując, aktualnie prowadzone badania dr Dariusza Dziga pozostają nadal w dotychczasowym obszarze i problematyce badawczej, którą Autor prowadzi od kilku ostatnich lat. W opinii recenzenta jest to słuszny wybór kontynuacji poprzednich doświadczeń naukowych gdyż tylko w ten sposób dr Dziga nie tylko ugruntuje swoją wysoką pozycję naukową specjalisty w skali światowej w uprawianej dziedzinie i problematyce naukowej ale także znacznie rozszerzy swoją, a

[1] Dziga, D. i wsp. 2016. Cylidrospermopsin biodegradation abilities of *Aeromonas* sp. isolated from Rusałka Lake. *Toxins*, 8, 55

dzięki przyszłym publikacjom, także ogólnie dostępną wiedzę na ten temat. Bezsprzecznie w chwili obecnej dr Dariusz Dziga, specjalizujący się w badaniach biochemiczno-molekularnych mechanizmów transformacji i degradacji toksyn sinicowych od 2012 roku[2] należy do uznanych i cytowanych w kraju i w świecie autorytetów naukowych.

Oprócz bieżącej, wysokiej aktywności naukowej i dużej skuteczności w pozyskiwaniu funduszy na prowadzone badania naukowe dr Dariusz Dziga aktywnie uczestniczy w popularyzacji swoich osiągnięć naukowych uczestnicząc w wielu konferencjach naukowych, a także w działaniach popularyzujących i upowszechniających wyniki badań naukowych (np. Festiwal Nauki w Krakowie, wykłady i zajęcia w szkołach). Jako nauczyciel akademicki zaangażowany jest w prowadzenie zajęć dydaktycznych (wykłady, ćwiczenia) a także aktywnie współpracuje ze studenckim ruchem naukowym pełniąc funkcję opiekuna naukowego w Studenckich Projektach Badawczych w ramach programu KNOW na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

## 3. Konkluzje i wnioski

Po dokładnym przeanalizowaniu przedstawionego mi do oceny osiągnięcia naukowego dra Dariusza Dzigi, wraz z wymaganymi załącznikami i dokumentacją związaną z Jego przewodem habilitacyjnym, **uważam, że spełnione zostały wszystkie wymogi merytoryczne i formalne określone odpowiednimi przepisami[3] uprawniające Kandydata do uzyskania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie biologia. Jednocześnie uznaję osiągnięcie naukowe dra Dariusza Dzigi za wyróżniające się** i wnioskuję do Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego o rozpatrzenie możliwości nagrodzenia rozprawy habilitacyjnej dra Dariusza Dzigi.

Prof. dr hab. Ryszard J. Chróst

Warszawa, 05-11-2016.

[2] pierwsza praca opublikowana z tej dziedziny naukowej: Dziga, D. i wsp. 2012, *Toxicon*, 59: 171-181.

[3] Ustawa z dn. 13 marca 2003 r. o stopniach i tytułach naukowych (Dz.U. 2014 r., poz. 1852 ze zmianami, zwłaszcza art. 16, 18a, 21); Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 30.10.2015 r. oraz z dn. 01.09.2011 r., Komunikat Nr 1/2015 Centralnej Komisji ws. toku postępowania habilitacyjnego