



17. 03. 2026 r.

Dr hab. Anna Brzostek
Pracownia Genetyki i Fizjologii Mycobacterium
Instytut Biologii Medycznej PAN, Łódź

Ocena pracy doktorskiej mgr Joanny Ewy Strzelczyk pt. „Charakterystyka *Aeromonas salmonicida*, patogenu pstrąga tęczowego, i wczesne oznaki odpowiedzi immunologicznej gospodarza”.

Przedstawiona do oceny praca doktorska została wykonana pod kierownictwem naukowym dr Bernd Koellner w Institute of Immunology, Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Institute for Animal Health Greifswald, Insel Riems w Niemczech, a promotorem w postępowaniu doktorskim mgr J. Strzelczyk jest Pan dr hab. Marek Fol, Prof. UŁ z Katedry Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytetu Łódzkiego. Należy podkreślić, że Doktorantka, przystępując do realizacji celów pracy doktorskiej, miała do dyspozycji bardzo dobry warsztat badawczy, niezbędną aparaturę naukową oraz wiedzę i doświadczenie promotora i opiekuna naukowego.

Pracę doktorską Pani mgr Joanny Strzelczyk stanowi monografia w języku angielskim, a zaproponowany tytuł pracy zachęca do jej dogłębnego przestudiowania. W skład monografii wchodzi wstęp z dwoma podrozdziałami. Następnie Doktorantka przedstawia cel pracy badawczej. Wyniki pracy doktorskiej zostały omówione w trzech osobnych rozdziałach, a każdy z nich składa się z części teoretycznej, zastosowanej metodyki, uzyskanych wyników oraz dyskusji. **Chciałabym zapytać Doktorantkę, jaki był powód takiej formy przedstawienia wyników, czy są to opracowane materiały do trzech niezależnych publikacji?** Dalej Autorka w punktach przedstawia wnioski, które stanowią raczej podsumowanie Jej badań i jednocześnie proponuje schematyczne, graficzne ujęcie prowadzonych badań z wnioskiem końcowym. Kolejne rozdziały monografii zawierają streszczenia w języku angielskim i polskim. Dodatkowo mgr J. Strzelczyk zamieszcza spis Rycin i Tabel zacytowanych w pracy doktorskiej oraz listę materiałów pomocniczych, do których nie podano linku (Rozdział 14, opisany jako curriculum vitae, podobnie jak spis tabel). W przedstawionej monografii zabrakło spisu publikacji oraz doniesień konferencyjnych Doktorantki.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska koncentruje się na analizie mechanizmów wirulencji bakterii *Aeromonas salmonicida* oraz jej interakcji z gospodarzem – pstrągiem tęczowym (*Oncorhynchus mykiss*).

We wstępie pracy doktorskiej mgr J. Strzelczyk szczegółowo zapoznaje czytelnika z modelem swoich badań, opisując siedlisko bytowania pstrąga tęczowego na świecie, podkreślając, że według Europejskiego Urzędu Statystycznego pstrąg tęczowy był jednym z najczęściej produkowanych gatunków ryb w 2022 roku, przynoszącym wysokie dochody. Jednocześnie Autorka podkreśla, że wybuchy chorób zakaźnych w akwakulturze mogą nakładać znaczne koszty i przynosić straty, a główną przyczyną są parametry wody (takie jak czystość, temperatura, napowietrzanie, pH czy zasolenie) oraz stosowanie antybiotyków, a co za tym idzie pojawianie się bakteryjnych szczepów



lekoopornych. Bakterie z rodzaju *Aeromonas*, w tym *A. salmonicida*, są znanymi patogenami ryb, odpowiedzialnymi za rozwój furunkulozy – choroby stanowiącej poważny problem w akwakulturze ryb łososiowatych. Znaczenie tego zagadnienia jest szczególnie widoczne w kontekście hodowli pstrąga tęczowego, który jest jednym z najważniejszych gatunków produkcyjnych w polskiej akwakulturze, odpowiadającym za znaczną część krajowej produkcji ryb.

Tematyka pracy doktorskiej mgr J. Strzelczyk wpisuje się w aktualny nurt badań nad patogenizacją mikroorganizmów oraz analizą interakcji gospodarz–patogen. Z tego względu badania nad molekularnymi podstawami patogenizacji tego drobnoustroju oraz nad mechanizmami odpowiedzi immunologicznej gospodarza mają zarówno istotne znaczenie poznawcze, jak i praktyczne.

Celem pracy doktorskiej mgr J. Strzelczyk jest szczegółowa charakterystyka repertuaru czynników wirulencji *Aeromonas salmonicida* oraz identyfikacja nowych elementów uczestniczących w interakcji bakterii z organizmem gospodarza. Wszystkie zaplanowane zadania badawcze (cele cząstkowe) są spójne i obejmują zarówno analizę genomową patogenu, jak i odpowiedź immunologiczną gospodarza.

Autorka wykorzystuje nowoczesne metody biologii molekularnej, w tym analizy genomowe i transkryptomiczne o wysokiej przepustowości (high-throughput), aby określić geny bakteryjne zaangażowane we wczesne etapy infekcji. Wśród najważniejszych metod zastosowanych w pracy są: sekwencjonowanie genomów bakterii i analiza pan-genomu, identyfikacja ORF i anotacja genów, porównawcza analiza genomów szczepów o różnej wirulencji, analiza mikromacierzy DNA w celu określenia zmian w ekspresji genów, eksperymenty hodowlane symulujące różne warunki środowiskowe, analizy odpowiedzi immunologicznej komórek ryb.

Metodyka pracy jest dobrze dobrana do postawionych celów badawczych i obejmuje zarówno analizy molekularne, jak i elementy badań funkcjonalnych. Na uwagę zasługuje także przynajmniej dwukrotne powtarzanie eksperymentów oraz zastosowanie odpowiednich analiz statystycznych.

Szczególnie interesującym elementem pracy jest zastosowanie podejścia pan-genomicznego, które umożliwia identyfikację genów wspólnych oraz zmiennych w obrębie badanego gatunku bakterii. Badania obejmowały trzy szczepy *A. salmonicida* o różnym poziomie zjadliwości. Analiza genomowa wykazała dużą stabilność genomu chromosomalnego bakterii przy jednoczesnej wysokiej zmienności genów plazmidowych. Wyniki te wskazują, że czynniki wirulencji mogą być związane przede wszystkim z elementami mobilnymi genomu, takimi jak plazmidy czy transpozony. Dogłębne przyjrzenie się zawartości genomowej każdego szczepu, ale także zdefiniowanie tych genów, które różnią się we wszystkich trzech szczepach, mogą decydować o ich wirulencji.

W niniejszych badaniach zaobserwowano, że wysoce wirulentny szczep JF2267 posiada więcej genów niż szczep atenuowany i typu dzikiego, co może warunkować jego wysoką wirulencję. Wszystkie geny wirulencji były zlokalizowane na plazmidach, co sugeruje, że geny chromosomalne *A. salmonicida* mogą odgrywać drugorzędą rolę w wirulencji.

Autorka przeprowadziła także szczegółową analizę transkryptomiczną bakterii w różnych warunkach środowiskowych odpowiadających (symulujących) warunkom występującym w organizmie gospodarza. W badaniach tych wykazano, że szczególnie silny wpływ na regulację genów mają niedobory żelaza i wapnia.



Jednym z ważniejszych osiągnięć Doktorantki jest wykazanie zmian w ekspresji genów w odpowiedzi na warunki środowiskowe ze szczególną indukcją ekspresji licznych genów związanych z transportem żelaza, metabolizmem oraz potencjalnymi czynnikami wirulencji.

Przeprowadzone analizy pokazały specyficzną rolę niedoboru żelaza i wapnia w regulacji genów związanych z patogenezą. Kolejnym ważnym osiągnięciem mgr J. Strzelczyk jest wskazanie genów kandydujących do dalszych badań funkcjonalnych, które mogą odgrywać rolę w początkowych etapach infekcji oraz w rozpoznawaniu bakterii przez układ odpornościowy gospodarza.

Doktorantka przeprowadziła szeroką dyskusję uzyskanych wyników, odnosząc je do aktualnej literatury naukowej (zacytowano 336 pozycji). Szczególnie interesująca jest analiza roli plazmidów oraz elementów mobilnych w kształtowaniu wirulencji bakterii. Wyniki sugerują, że zmiany w składzie plazmidów mogą prowadzić do szybkiej adaptacji bakterii do nowych warunków środowiskowych oraz do zwiększenia ich patogenności. Ciekawym elementem dyskusji jest również odniesienie do koncepcji quasi-gatunków oraz do roli horyzontalnego transferu genów w ewolucji bakterii. Doktorantka wskazuje, że zmienność wirulencji szczepów może wynikać zarówno z nabywania nowych genów, jak i z utraty części materiału genetycznego. Wyniki te stanowią cenny wkład w poznanie mechanizmów patogenezы *Aeromonas salmonicida*. Praca dostarcza nowych danych dotyczących zmienności genomowej tego patogenu oraz jego zdolności adaptacyjnych.

Istotnym wnioskiem pracy doktorskiej jest również podkreślenie znaczenia wrodzonego układu odpornościowego ryb w początkowych etapach infekcji, co ma związek z szybkim rozwojem choroby.

Uwagi do Doktorantki:

Moim zdaniem przedstawiona do oceny praca doktorska posiada wiele zalet, mimo to można wskazać kilka elementów wymagających dopracowania:

- w niektórych fragmentach tekstu pojawiają się drobne nieścisłości językowe oraz stylistyczne. Dotyczy to zwłaszcza opisów tabel i niektórych fragmentów wyników (np. w tekście nie ma opisu do Tabeli 15, brak załączników do materiałów dodatkowych)
- w części dotyczącej analizy ORF oraz różnic w sekwencjach genów pojawia się sugestia, że niektóre obserwowane różnice mogą wynikać z problemów technicznych lub biologicznych. Warto byłoby szerzej omówić możliwe przyczyny tych rozbieżności.
- w kilku miejscach po szczegółowym opisie wyników przydatne byłoby bardziej syntetyczne ich podsumowanie.

Należy jednak podkreślić, że uwagi te mają charakter raczej redakcyjny i nie podważają wartości naukowej przedstawionych badań.

Pytania do Doktorantki:

1. W jaki sposób wyniki Pani badań pogłębiają obecny stan wiedzy na temat mechanizmów wirulencji bakterii *Aeromonas salmonicida* oraz ich interakcji z układem odpornościowym pstrąga tęczowego?



2. Dlaczego w swoich badaniach skoncentrowała się Pani na wczesnych etapach infekcji bakteryjnej i jakie znaczenie ma ten etap dla rozwoju furunkulozy? (w pracy podkreślono, że pierwsze dni infekcji są kluczowe dla odpowiedzi immunologicznej gospodarza)
3. Które z uzyskanych wyników uważa Pani za najbardziej obiecujące w kontekście opracowania szczepionki przeciwko furunkulozie u ryb?
4. Dlaczego w Pani badaniach regulacja genów zlokalizowanych w wyspach patogeniczności nie była wyraźna i jakie dodatkowe eksperymenty mogłyby to wyjaśnić?

Podsumowanie i ocena końcowa:

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi wartościowe opracowanie naukowe dotyczące molekularnych mechanizmów wirulencji bakterii *Aeromonas salmonicida*. Praca łączy podejścia genomowe, transkryptomyczne oraz immunologiczne, co pozwala na kompleksowe spojrzenie na problem interakcji gospodarz–patogen. Do najważniejszych zalet pracy należy zaliczyć: aktualność podjętej tematyki, zastosowanie nowoczesnych metod badawczych, szeroki zakres przeprowadzonych analiz, interesujące i dobrze udokumentowane wyniki oraz poprawną interpretację rezultatów w kontekście literatury naukowej.

W mojej ocenie rozprawa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych. Pani mgr J. Strzelczyk wykazała się umiejętnością samodzielnego prowadzenia badań naukowych, właściwego doboru metod badawczych oraz krytycznej analizy uzyskanych wyników.

Po szczegółowym zapoznaniu się z pracą doktorską wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie mgr J. Strzelczyk do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr J. Strzelczyk

Z uwagi na fakt, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki mają znaczenie zarówno poznawcze, jak i potencjalnie aplikacyjne oraz jakoś naukową ocenianej pracy, proszę Szanowną Komisję o nagrodzenie pracy doktorskiej Pani mgr Joanny Strzelczyk przewidzianą w regulaminie nagrodą.

Uzasadnienie wniosku:

Przedstawiona rozprawa doktorska stanowi wielopoziomowe opracowanie dotyczące mechanizmów wirulencji *Aeromonas salmonicida* oraz wczesnych etapów odpowiedzi immunologicznej pstrąga tęczowego. A największym atutem pracy jest kompleksowe połączenie



genomiki porównawczej, transkryptomiki oraz badań funkcjonalnych na poziomie komórkowym. Autorka na tej podstawie buduje spójny model współdziałania patogenu i gospodarza. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania nad trzema szczepami *A. salmonicida* o różnej wirulencji pozwoliły po raz pierwszy szczegółowo opisać związek między zmiennością genomu plazmidowego a zdolnością bakterii do infekcji. To znacznie poszerza wiedzę o patogenie ryb, jakim jest *Aeromonas salmonicida*, i stanowi punkt odniesienia dla dalszych badań. Zastosowana szeroka analiza transkryptomyczna szczepu JF2267 pokazuje, jak pojedyncze czynniki środowiskowe (wapń, żelazo, tlen, temperatura) modulują ekspresję szeregu genów, w tym kluczowych determinant wirulencji. Takie połączenie danych genomowych i transkryptomicznych przekłada się na możliwość identyfikacji nowych wzorców molekularnych związanych z patogenami (PAMP), co może przyczynić się do zaproponowania nowych, skuteczniejszych szczepionek, a tym samym do kontroli nad rozwojem chorób w akwakulturze. Ponadto rozprawa doktorska wyróżnia się szerokim zakresem metod, głęboką analizą, naukową dojrzałością oraz znaczną wartością poznawczą oraz aplikacyjną.

dr hab. Anna Brzostek