



UNIWERSYTET ROLNICZY
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wydział Rolniczo-Ekonomiczny
Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu

Kraków, 28. 10.2022

Dr hab. inż. Anna Lenart-Boroń, prof. URK
Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Al. A. Mickiewicza 24/28
30-059 Kraków
email: anna.lenart-boron@urk.edu.pl

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr Małgorzaty WOŹNIAK

„Bakteryjne endofity wybranych roślin uprawnych i chwastów – różnorodność biologiczna i ocena potencjału biotechnologicznego w promowaniu wzrostu i rozwoju roślin”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została wykonana pod kierunkiem dr hab. Anny Gałązki, prof. IUNG-PIB w Zakładzie Mikrobiologii Rolniczej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach.

Rozprawa odnosi się do istotnego zagadnienia, związanego z wykorzystaniem potencjału mikroorganizmów i/lub ich metabolitów w praktyce rolniczej, zgodnie z najnowszymi założeniami zrównoważonego rolnictwa. Problem zubożenia, a nawet utraty bioróżnorodności gleb, przyczynia się do utraty jej głównych funkcji. Aby zapobiec zmniejszeniu bioróżnorodności podejmuje się działania mające je powstrzymać, m.in. przyczynianie się do przywrócenia prawidłowego funkcjonowania ekosystemów poprzez ograniczenie stosowania chemicznych środków ochrony roślin i pestycydów oraz nawozów mineralnych. Jedną z dróg do osiągnięcia tych celów może być wykorzystanie mikroorganizmów i ich potencjału polegającego na mobilizacji i udostępnianiu roślinom składników odżywczych, czy stymulowaniu wzrostu i rozwoju roślin, lub zwiększaniu ich odporności.

Biorąc pod uwagę powyższe, podjęty przez Doktorantkę główny cel badań, tj. poszukiwanie i wyselekcjonowanie szczepów bakterii endofitycznych, wyizolowanych z roślin uprawnych i chwastów, które byłyby najbardziej przydatne pod kątem promowania wzrostu i rozwoju roślin rodzimych, jest jak najbardziej zasadny. Zgodnie z założeniami Doktorantki, informacje przedstawione w pracy wzbogaciły aktualną wiedzę dotyczącą bakterii endofitycznych, ich interakcji z roślinami, różnorodności i mechanizmów przyczyniających się do promowania wzrostu i rozwoju roślin. Uzyskane dane mogą przyczynić się do opracowania nowoczesnej alternatywy dla agrochemikaliów stosowanych dotychczas w rolnictwie.

Ocena formalna i merytoryczna

Rozprawa doktorska jest oparta o 7 powiązanych tematycznie artykułów naukowych, w tym pięć prac przeglądowych i dwie badawcze. Prace zostały opublikowane w latach 2016-2019. Część wprowadzająca pracy liczy 39 stron i obejmuje *Wstęp, Przegląd literatury, Hipotezę i cel badań, Materiały i Metody badawcze, Wyniki badań, Dyskusję i Wnioski*. Wszystkie wymienione przeze mnie rozdziały składające się na część wprowadzającą są bardzo rzetelnie przygotowane. Pomimo tego, że na pracę doktorską składa się pięć publikacji przeglądowych prezentujących aktualny stan wiedzy w omawianym temacie, to Doktorantka także w części wprowadzającej zawarła Przegląd literatury, kompleksowo charakteryzując zagadnienie podjęte w swojej pracy doktorskiej i wskazując na luki w obecnym stanie wiedzy, wymagające uzupełnienia. Hipoteza badawcza została sformułowana umiejętnie, główne i szczegółowe cele badawcze są precyzyjne. Materiały i metodyka badań są opisane jasno i wyczerpująco, badania zostały zaplanowane w oparciu o najbardziej aktualny stan wiedzy i poparte odpowiednimi cytowaniami. Uzyskane w pracach badawczych wyniki zostały przez Doktorantkę podsumowane i zestawione również w części wprowadzającej – w 5 tabelach i na 6 rycinach. Wyniki uzyskane w toku badań zostały dodatkowo przedyskutowane w oparciu o kilkadziesiąt pozycji literaturowych. W oparciu o swoje analizy, Doktorantka sformułowała 7 interesujących i ważnych wniosków, dających podstawy do kontynuacji badań.

Do pracy dołączono wydruk wszystkich artykułów naukowych, składających się na rozprawę doktorską oraz oświadczenia Autorki i Współautorów prac.

Podczas lektury części wprowadzającej i artykułów naukowych nasunęło mi się kilka uwag i pytań:

1. Wydaje mi się, że zarówno w treści opisu pracy jak i w tekście publikacji (1) Woźniak i in. (2018) wkraśl się błąd – czy bakterie po barwieniu Grama były oglądane pod powiększeniem 100 czy 1000x? Powiększenie 100x może być zbyt małe do tego celu.

2. Brakuje mi konkretnych informacji, na jakiej podstawie bakteryjne szczepy zostały wybrane do badania DGGE? W opisie pracy podano, że tej analizie poddano wybrane szczepy, natomiast w pracy Woźniak i in. (2018) odniesiono się jedynie do źródła literaturowego. Proszę o wyszczególnienie kryteriów, na podstawie których wybrano dane szczepy do badania zróżnicowania genetycznego.

3. Podobnie charakterystyka biochemiczna i określenie przydatności izolatów do promowania wzrostu i rozwoju roślin zostały przeprowadzone na wybranych izolatach bakterii (tj. 23). Jakie były przesłanki do wybrania tych właśnie a nie innych izolatów?

4. Zastanawia mnie kwestia wyboru podłoża do izolacji bakterii endofitycznych. Nie kwestionując użyteczności podłoża TSA do izolacji bakterii, czy brano było pod uwagę wykorzystanie podłoży wybiórczych na etapie izolacji? Np. YEM agar (lub inne podłoże bez azotu) do izolacji bakterii *Rhizobium*?

5. Czy na podstawie przeprowadzonych i opisanych badań i posiadając obecną wiedzę, potrafi Pani wytypować który/które spośród przebadanych gatunków i/lub rodzajów warto poddać dalszym testom względem ich użyteczności jako ekologicznej alternatywy agrochemikaliów? A może już na podstawie zebranych danych da się wyselekcjonować konkretnych kandydatów?

6. Czy badania nad inokulacją roślin konkretnymi szczepami (tak jak zapowiedziano w publ. nr 2) są w toku lub w planie?

7. W publikacji 5 znajduje się sporo literówek i drobnych błędów. Także w publ. 5 problem kontroli biologicznej warto byłoby potraktować szerzej.

W odniesieniu do opracowania, interpretacji i wizualizacji danych, pragnę docenić zastosowanie metody PCA. Nie wszyscy badacze decydują się na jej wykorzystanie nawet w przypadku ogromnej ilości przetwarzanych danych, również zdarza się, że jej zastosowanie i interpretacja wyników nastroczają trudności. Wyniki zaprezentowane przez Doktorantkę, uzyskane z użyciem PCA, są bardzo ciekawe i czytelnie pokazują pogrupowanie szczepów (publikacja nr. 2) pod względem analizowanych cech.

Ważnym elementem pracy są artykuły przeglądowe, kompleksowo opisujące zagadnienia poruszane w części eksperymentalnej pracy. Praca nr 7 powstała dodatkowo zarówno w języku polskim jak i angielskim.

Również chcę wyrazić uznanie dla dużego nakładu pracy Doktorantki, który wylania się podczas lektury rozprawy. Mamy tu 5 kompleksowych i dobrze przygotowanych prac przeglądowych jak i dwie eksperymentalne, składających się na spójny tematycznie cykl artykułów. Prace przeglądowe są bardzo dobrze przygotowane i wskazują na dużą wiedzę Doktorantki i dogłębne poznanie badanego przez Nią zagadnienia. Praca i zaangażowanie, które wymagane są do przeprowadzenia opisanych w pracach badawczych eksperymentów, interpretacja wyników i opracowanie statystyczne były z pewnością znaczne. Dodatkowo, prace składające się na rozprawę doktorską, są pracami wieloautorskimi, gdzie Doktorantka była pierwszym autorem wszystkich prac i autorem korespondencyjnym w większości z nich. Uważam, że w rozwoju naukowym ważna jest umiejętność współpracy, a dzięki temu współtworzenia szeroko zakrojonych badań, oraz korzystania z nowoczesnych technik badawczych i metod interpretacji danych. Wszystkie te warunki zostały przez Panią Małgorzatę Woźniak spełnione.

Ocena dorobku osoby ubiegającej się o stopień naukowy

Mgr Małgorzata Martyna Woźniak jako rozprawę doktorską przedstawiła zbiór 7 artykułów naukowych: dwóch prac badawczych i pięciu przeglądowych. Cztery prace opublikowane zostały w czasopismach o wskaźniku IF od 0,263 do 4,556 (łącznie IF zgodnie z rokiem opublikowania to **6,503**). Punktacja MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania prac wyniosła łącznie **242 p.** (2 x 5, 12, 15, 20, 45 i 140 p.), a prace składające się na rozprawę są dobrze cytowane (63 cytowania zgodnie z Google Scholar). Wyniki badań i ich prezentacje zostały trzykrotnie wyróżnione na konferencjach i przez gremia naukowe takie jak Europejski Kongres Mikrobiologów. Badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej były finansowane ze środków statutowych IUNG-PIB. We wszystkich pracach Doktorantka była pierwszym autorem, a w sześciu – autorem korespondencyjnym. Zgodnie z zamieszczonymi oświadczeniami, Pani Małgorzata Woźniak miała bardzo duży udział w procesie tworzenia publikacji, gdyż wynosił on od 80% do 95%. W pracach badawczych Jej wkład obejmował opracowanie koncepcji badań, wykonanie analiz laboratoryjnych, analizę wyników, napisanie manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje. W pracach przeglądowych zaś, Doktorantka opracowała koncepcje manuskryptów, zgromadziła literaturę, napisała tekst publikacji i odpowiedziała na recenzje, a zatem była to większość kwestii związanych z powstaniem tych prac. Biorąc pod uwagę powyższe, dorobek naukowy Pani Mgr Małgorzaty Woźniak zasługuje na wysoką ocenę. Przedstawione prace poszerzają obecną wiedzę dotyczącą mikroorganizmów endofitycznych roślin uprawnych i chwastów oraz ich potencjalnej

użyteczności w promowaniu wzrostu roślin. Co ważne, wyniki uzyskane w ramach rozprawy doktorskiej stanowią podstawę do dalszych badań nad praktycznym zastosowaniem wybranych rodzajów i gatunków bakterii jako składników biopreparatów stymulujących wzrost i rozwój roślin. Daje to również nadzieję na dalszy owocny rozwój naukowy Doktorantki.

Konkludując: Podjęta przez Doktorantkę problematyka jest ważna i uzasadniona zarówno pod względem poznawczym jak i użytkowym. Cel pracy oraz hipotezy badawcze zostały poprawnie określone. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem wachlarza nowoczesnych metod, które pozwoliły na spełnienie założonych celów i uzyskanie szeregu wartościowych wyników. Wskaźniki punktacji czasopism, w których opublikowano artykuły, będące składowymi pracy doktorskiej, są bardzo dobre, a udział Doktorantki w publikacjach jest znaczący.

Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Martyny WOŹNIAK, pt. „Bakteryjne endofity wybranych roślin uprawnych i chwastów – różnorodność biologiczna i ocena potencjału biotechnologicznego w promowaniu wzrostu i rozwoju roślin” spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Pani mgr Małgorzata Woźniak udokumentowała spełnienie wszystkich wymogów stawianych kandydatom do stopnia naukowego doktora. W związku z tym wnioskuję o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie mgr Małgorzaty Woźniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Anna Lenart-Boron

