

Lublin, 25.01.2023

prof. dr hab. Magdalena Frąc  
Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego  
Polskiej Akademii Nauk  
Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina  
Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej  
ul. Doświadczalna 4  
20-290 Lublin

### **Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Sylwii Siebielec**

**pt. „Ocena możliwości wykorzystania mikroorganizmów do poprawy efektywności  
wybranych fitotechnologii w remediacji gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami”**

Rozprawa doktorska **mgr inż. Sylwii Siebielec** została wykonana w Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowym Instytucie Badawczym w Puławach pod kierunkiem promotora prof. dra hab. Tomasza Stuczyńskiego. Recenzja została wykonana na podstawie uchwały nr 32/2022 Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach z dnia 8 listopada 2022 r. w sprawie wyznaczenia recenzentów rozprawy doktorskiej mgr inż. Sylwii Siebielec podpisanej przez Zastępcę Przewodniczącego Rady Naukowej prof. dra hab. Janusza Podleśnego oraz umowy na wykonanie recenzji z dnia 01.12.2022 r., podpisanej przez Zastępcę Dyrektora ds. naukowych w zakresie badań środowiskowych prof. dra hab. Mariusza Matykę.

#### **1. Struktura rozprawy doktorskiej – ocena formalna**

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Sylwii Siebielec liczy 219 stron, w tym 49 rysunków, 26 fotografii, 31 tabel oraz 387 pozycji literatury. Badania opisane w rozprawie doktorskiej zostały przeprowadzone w ramach projektu pn. „*Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów pohutniczych przez rośliny oraz ich wpływ na biodostępność pierwiastków śladowych*” finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Konkursie Preludium 9, a część badań dotycząca bakterii promujących wzrost i rozwój roślin wyizolowanych ze składowiska odpadów pohutniczych była podstawą do przygotowania projektu pn. „*Opracowanie innowacyjnej technologii wytwarzania wzbogaconych mikrobiologicznie bionawozów wspomagających zrównoważoną produkcję roślinną i jej adaptację do zmian klimatu*”, który w 2021 roku uzyskał finansowanie przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu LIDER XII.

Rozprawa doktorska została bardzo starannie przygotowana w postaci złożonego z 13 rozdziałów opracowania, zawierającego liczne podrozdziały. W kolejnych rozdziałach przedstawione zostały: WPROWADZENIE (1), PRZEGLĄD LITERATURY (2), CEL I ZAKRES PRACY (3), HIPOTEZY BADAWCZE (4), MATERIAŁ I METODY (5), WYNIKI I DYSKUSJA (6), PODSUMOWANIE BADAŃ, PERSPEKTYWY BADAWCZE I WNIOSKI (7), LITERATURA (8), STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ (9), WYKAZ FOTOGRAFII, RYSUNKÓW I TABEL (10), INFORMACJE DODATKOWE (11), MATERIAŁY GRAFICZNE I SKRÓTY (12) oraz OŚWIADCZENIA (13). **Pierwsze dwa rozdziały**, liczące 57 stron, to elementy pracy, które wprowadzają czytelnika do poruszanej tematyki oraz szeregu wyników badań, które dotyczą zanieczyszczenia środowiska przyrodniczego, technik fitoremediacji, a także znaczenia mikroorganizmów w remediacji gleb zanieczyszczonych, co przyczynia się do pogłębienia wiedzy z zakresu zagadnień istotnych dla ochrony środowiska, poprawy jakości gleb silnie zanieczyszczonych oraz wykorzystania mikroorganizmów w remediacji gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami. Na kolejnych 6 stronach Doktorantka przedstawiła **cel, zakres oraz hipotezy badawcze**. Następny rozdział obejmuje część metodyczną – **Materiał i metody** i liczy 24 strony. Został on podzielony na trzy główne podrozdziały, zawierające opis obiektów doświadczalnych i stosowanych metod badawczych, charakterystykę metod i materiałów laboratoryjnych oraz przedstawienie wykorzystanych analiz statystycznych. Najbardziej rozbudowaną część rozprawy doktorskiej stanowi rozdział **Wyniki i dyskusja**, który został przedstawiony na 79 stronach i składa się z 3 podrozdziałów, obejmujących badania terenowe składowisk odpadów pohutniczych 20 lat po zabiegach remediacyjnych i składowisk niezrekultywowanych, a także efektywności wybranych szczepów bakterii w fitostabilizacji odpadów pohutniczych w doświadczeniu wazonowym. Połączenie opisu wyników badań z dyskusją pozwoliło na bieżącą ich interpretację i odnośnienie do danych literaturowych. W rozdziale **obejmującym podsumowanie badań, perspektywy badawcze i wnioski** Doktorantka sformułowała 8 wniosków szczegółowych i 3 wnioski końcowe, które są trafne i znajdują potwierdzenie w uzyskanych wynikach, a także przedstawiła najważniejsze osiągnięcia dla każdego ze zrealizowanych zadań. **Spis literatury** liczy 387 pozycji i obejmuje prace 301 prac z ostatnich 20 lat, przy czym Doktorantka odwołuje się aż do 352 publikacji anglojęzycznych. Oznacza to, że podjęta tematyka, pomimo tego, że badana od wielu lat, wciąż jest aktualna. Przedstawiony spis bibliografii, cytowany w rozprawie doktorskiej, potwierdza również, że Doktorantka przeprowadziła gruntowny przegląd

literatury, obejmujący kluczowe aspekty badań poruszanych w dysertacji. Następnie Autorka zamieściła **streszczenia rozprawy doktorskiej w języku polskim i angielskim**, które są spójne i zawierają cel podjętych badań oraz syntetyczne podsumowanie uzyskanych rezultatów, a na końcu znajdują się **wykazy i dokumentacja fotograficzna** ułatwiające czytelnikowi śledzenie uzyskanych wyników. Układ rozprawy jest typowy dla doktorskich prac eksperymentalnych, a tytuł dysertacji jest jasno sformułowany i odpowiada jej treści. **Pod względem formalnym bardzo wysoko oceniam przygotowanie rozprawy doktorskiej.**

## **2. Ocena podjętej tematyki badawczej rozprawy**

Jednym z ważniejszych wyzwań współczesnego świata jest dbałość o środowisko przyrodnicze, zrównoważony rozwój oraz niwelowanie skutków negatywnego oddziaływania antropopresji na ekosystem. Gleba zapewnia żywność, czystą wodę i siedliska dla różnorodności biologicznej, jednocześnie przyczyniając się do odporności na zmiany klimatu. Gleba jest podstawowym składnikiem wspierającym życie na Ziemi, stanowiąc integralny i wielofunkcyjny element wszystkich ekosystemów lądowych. Życie na Ziemi zależy od zdrowych gleb. Według najnowszych danych aż 60-70% gleb w Unii Europejskiej to gleby o obniżonej jakości, które wymagają poprawy. Dlatego też celem najnowszej Misji Glebowej „*Troska o glebę to troska o życie*” w ramach Programu Horyzont Europa zaproponowanej przez Radę ds. Zdrowia Gleby i Żywności jest zapewnienie, aby do 2030 roku 75% gleb było zdrowych i zdolnych do świadczenia podstawowych usług ekosystemowych. **Recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Sylwii Siebielec obejmuje badania dotyczące oceny możliwości wykorzystania mikroorganizmów do poprawy efektywności wybranych fitotechnologii w remediacji gleb, a także odpadów zanieczyszczonych metalami, wpisując się wprost w założenia związane z odbudową i regeneracją środowiska, stanowiąc doskonały przykład właściwego podejścia do tego wyzwania.**

Zarządzanie środowiskiem przyrodniczym w celu ograniczenia dyspersji szkodliwych zanieczyszczeń należy do ważnych elementów ochrony ekosystemów, a wśród technologii remediacji zanieczyszczonych gleb należy wymienić zabiegi fitoremediacji wspomagane coraz częściej działalnością mikroorganizmów. Europejski Zielony Ład, którego elementem jest Strategia na rzecz Bioróżnorodności do 2030 roku, zakłada m.in. ograniczenie zanieczyszczenia gleby, ochronę różnorodności biologicznej oraz ulepszenie gospodarki odpadami. Zatem nowoczesne podejście do ekosystemów glebowych, ich zarządzania,

ochrony i monitorowania musi być nie tylko skuteczne i ekonomicznie uzasadnione, ale również oparte na metodach biologicznych nadających tolerancję na czynniki stresowe, a także poprawiających parametry bio-fizyko-chemiczne gleb zdegradowanych. Należy również podkreślić zagrożenia związane z kumulacją pierwiastków śladowych w środowisku, których skutki oddziaływania i toksyczność stanowią realne zagrożenie dla organizmów żywych oraz trwałych zmian środowiskowych, zwłaszcza związanych z ich transferem do łańcucha pokarmowego i wpływem na bezpieczeństwo żywnościowe. Dlatego też remediacja gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami wymaga ścisłej kontroli potencjalnych zanieczyszczeń, do których zaliczyć można głównie metale śladowe oraz różne związki organiczne. Ponadto, ocena zagrożeń i korzyści, wynikających z zanieczyszczenia oraz ze stosowania technologii remediacji, wiąże się z określeniem wpływu danego podejścia, czy to fitoremediacji czy technologii fitostabilizacji wspomagananej mikrobiologicznie, na właściwości gleby z uwzględnieniem aktywności i bioróżnorodności mikroorganizmów środowiska glebowego.

**Badania podjęte przez Doktorantkę są celowe i w pełni uzasadnione w kontekście oceny zagrożeń dla jakości gleb i korzyści związanych z ochroną gleb oraz technologiami remediacji. Prowadzenie badań nad wpływem zabiegów remediacyjnych na zanieczyszczone środowisko glebowe, zwłaszcza w kontekście bioróżnorodności mikrobiologicznej, stanowi ważny element monitoringu środowiska i dotyczy aktualnych problemów ochrony środowiska glebowego. Znaczenie podjęcia przez Doktorantkę badań z tej bardzo aktualnej i wymagającej natychmiastowych i skutecznych rozwiązań tematyki jest ogromne, gdyż podejmuje bardzo ważne zagadnienia wychodzące naprzeciw problemom odbudowy i regeneracji terenów zdegradowanych, dając nadzieję nie tylko na poszerzenie wiedzy teoretycznej, ale również dostarczając podstaw do opracowania metodologii opartej na mikroorganizmach i zarządzania mikrobiomami w celu przyszłych zabiegów remediacji gleb i odbudowy ich bioróżnorodności. Dlatego recenzowana rozprawa doktorska przedstawia aktualną i ciekawą tematykę badawczą, zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i użytecznego. Należy dodać, że tematyka badawcza podjęta przez Doktorantkę wpisuje się w dziedzinę nauk rolniczych, dyscyplinę rolnictwo i ogrodnictwo.**

### **3. Merytoryczna analiza rozprawy**

Ocenianą rozprawę doktorską mgr inż. Sylwii Siebielec cechuje bardzo szerokie spojrzenie na zagadnienia kształtowania zrównoważonego rozwoju i ochrony gleb, w szczególności opartej na stosowaniu skutecznych technologii fitoremediacji oraz efektywności wybranych szczepów bakterii w fitostabilizacji odpadów pohutniczych.

**Rozprawa doktorska nadała nową jakość badaniom nad procesami fitoremediacji terenów zanieczyszczonych**, obejmując nie tylko ich właściwości fizykochemiczne, ale także kompleksowe podejście, obejmujące szeroki wachlarz parametrów mikrobiologicznych, podkreślających potrzebę odbudowy bioróżnorodności tych zanieczyszczonych gleb. Gleby zanieczyszczone metalami ciężkimi mogą być regenerowane, jak podała Doktorantka w rozprawie, przy udziale mikroorganizmów wytwarzających różne metabolity, w tym m.in. siderofory, kwasy organiczne, peptydy czy egzopolimery. Ogromną zaletą rozprawy doktorskiej mgr inż. Sylwii Siebielec jest to, że została ona oparta na innowacyjnych założeniach. Pierswszym z nich jest idea wykorzystania mikroorganizmów wyodrębnionych z zanieczyszczonych terenów pohutniczych do zwiększenia efektywności zabiegów fitoremediacyjnych. Drugim, bardzo ważnym punktem, decydującym o efektywności fitoremediacji gleb było podejście uwzględniające nie tylko parametry fizykochemiczne gleb, ale również rolę i interakcje pomiędzy różnorodnością i aktywnością mikroorganizmów a roślinami, istotne w ocenie stanu ekologicznego gleb zdegradowanych.

**W rozprawie uwzględniono bardzo ciekawy oraz ważny cel główny**, dotyczący rozpoznania roli mikroorganizmów w fitoremediacji gleb i składowisk odpadów pohutniczych, zanieczyszczonych metalami, a także istotny aspekt możliwości wykorzystania tych mikroorganizmów do zwiększenia efektywności zabiegów fitoremediacyjnych. W oparciu o ten cel sformułowano szczegółowe cele cząstkowe, które ukierunkowały badania według bardzo dobrego planu działania i pozwoliły na określenie zakresu rozprawy, który pozwolił na przeprowadzenie kolejnych etapów prac, obejmujących trzy odrębne zadania badawcze.

**Oceniana rozprawa doktorska jest przykładem niezwykle umiejętnego i nowoczesnego wykorzystania różnorodnych metod niezbędnych do realizacji założeń i celów**, co wymagało opanowania warsztatu badawczego z obszaru mikrobiologii, chemii, biochemii, genetyki, fizjologii roślin, ekologii, ochrony środowiska oraz nauk rolniczych. Zarówno część metodyczna pracy, jak też rozdział obejmujący wyniki i dyskusję potwierdzają bardzo szeroki zakres badań wykonanych przez Doktorantkę, obejmujący obszerną część analiz fizycznych i chemicznych gleb, w tym określenie: składu granulometrycznego,



zawartości materii organicznej oraz węgla i azotu całkowitego, odczynu, całkowitej zawartości oraz przyswajalnych form fosforu, potasu, magnezu i pierwiastków śladowych, a także zawartości mineralnych form azotu. Ponadto, Doktorantka określiła zawartość azotu całkowitego, pierwiastków śladowych oraz pozostałych makroelementów w materiale roślinnym. **Najbardziej obszerną i rozbudowaną część badań stanowiły jednak testy mikrobiologiczne**, z uwzględnieniem metod klasycznej mikrobiologii, jak również nowoczesnych metod opartych o techniki biologii molekularnej. Zakres badań mikrobiologicznych wykonanych przez Doktorantkę obejmował: a) przeprowadzenie izolacji oraz identyfikacji szczepów mikroorganizmów, w tym potencjalnych asymilatorów azotu atmosferycznego oraz bakterii potencjalnie solubilizujących fosforany z gleby pochodzącej ze składowiska odpadów pohutniczych nawożonego wapnem odpadowym oraz osadem ściekowym; b) określenie ogólnej liczebności wybranych grup bakterii i grzybów, w tym bakterii z rodzaju *Azotobacter*, bakterii właściwych i promieniowców, bakterii amonifikacyjnych, drobnoustrojów rozpuszczających fosforany, ogólnej liczebności bakterii kopiotroficznych i oligotroficznych, a także ogólnej liczebności grzybów; c) wykonanie oznaczeń aktywności enzymatycznej gleby, w tym fosfatazy kwaśnej i zasadowej oraz dehydrogenaz; d) określenie profilu metabolicznego mikroorganizmów glebowych z wykorzystaniem płytek Biolog ECO; e) określenie różnorodności genetycznej mikroorganizmów z wykorzystaniem techniki PCR-DGGE; f) określenie składu taksonomicznego zbiorowisk bakterii ryzosfery roślin spontanicznie zasiedlających niezrekultywowany odpad poflotacyjny z wykorzystaniem sekwencjonowania następnej generacji. **Na podkreślenie zasługuje kompleksowe przeprowadzenie badań zarówno terenowych, jak również zaprojektowanie i przeprowadzenie doświadczenia wazonowego** z życicą wielokwiatową (*Lolium multiflorum*) oraz różnymi dodatkami doglebowymi wzbogaconymi mikrobiologicznie. Pierwszy obiekt terenowy obejmował składowisko odpadów na terenie zlikwidowanej huty cynku i ołowiu w Piekarach Śląskich, na którym w celu wskazania najbardziej efektywnych i zrównoważonych sposobów zagospodarowania terenów silnie zanieczyszczonych, zastosowano sześć wariantów rekultywacyjnych z różnymi dawkami osadu ściekowego (0, 150, 300 t ha<sup>-1</sup>) i wapna odpadowego (0, 100, 1000 t ha<sup>-1</sup>). Drugi obiekt eksperymentalny obejmował dwa niezrekultywowane składowiska odpadów pohutniczych, w tym odpadu żuźlowego i wapna poflotacyjnego. Na podstawie analizy botanicznej określono skład gatunkowy dominujących roślin występujących na składowiskach odpadów, co umożliwiło również interpretację

uzyskanych wyników mikrobiologicznych w powiązaniu z roślinnością zasiedlającą badane tereny. Zastosowana metodyka badań świadczy o opanowaniu przez Doktorantkę szerokiego warsztatu badawczego. Doktorantka w czytelny i jasny sposób przygotowała opisy metodyczne, dotyczące zastosowanych metod laboratoryjnych, założenia doświadczenia wazonowego oraz eksperymentów terenowych. **Należy podkreślić, że eksperymenty wykonane zostały w sposób poprawny, a metody badawcze zostały dobrane właściwie, umożliwiając zrealizowanie podjętego celu rozprawy doktorskiej.**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pokazuje umiejętność Doktorantki do analizy i przedstawienia wyników oraz ich prawidłowego omówienia i skonfrontowania z danymi literaturowymi, co znalazło odzwierciedlenie w tej części dysertacji. Doktorantka prawidłowo scharakteryzowała efekty badań, a wyniki zostały opisane w sposób uporządkowany i przejrzysty. Wyniki badań uzyskane przez Doktorantkę w ramach zadania badawczego nr 1 wskazują na skuteczność rekultywacji hałdy w wyniku aplikacji osadu ściekowego i wapna odpadowego, potwierdzając jednocześnie ograniczenie wtórnej dyspersji zanieczyszczeń. Jak wskazała Doktorantka, zastosowana metoda rekultywacji zapewnia trwałe funkcjonowanie ekosystemu utworzonego na hałdach toksycznych odpadów. Biorąc pod uwagę bardzo szeroki wachlarz badań i analiz przeprowadzonych przez Doktorantkę, nasuwa się pytanie, które z badanych parametrów i właściwości gleby wskazałyby Pani jako najlepsze w ocenie efektywności zastosowanych zabiegów rekultywacyjnych? Doktorantka wskazała, że wykazano zdecydowany przyrost różnorodności metabolicznej i genetycznej mikroorganizmów glebowych po zastosowaniu kombinacji osadów i wapna. Czy mogłaby Pani wskazać, która z testowanych dawek tych odpadów była najbardziej skuteczna w odbudowie bioróżnorodności silnie zanieczyszczonych terenów zdegradowanych?

W ramach uzyskanych wyników Doktorantka podkreśliła, że ogólna aktywność metaboliczna, wyrażona wskaźnikiem AWCD była wysoka po zastosowaniu osadu i wapna, jednakże stwierdzono widoczną fazę opóźnienia źródeł węgla. W jaki sposób mogłaby Pani wytłumaczyć zaobserwowany efekt? Czy Pani zdaniem mógł być on związany z potrzebą adaptacji mikroorganizmów, które pochodziły ze zreaktywowanych terenów zanieczyszczonych? Biorąc pod uwagę, że Doktorantka badała tereny zanieczyszczone i rekultywowane interesujące byłoby wykorzystanie wskaźnika stresu substratowego, opartego na wynikach Biolog ECO, wyrażonego jako stosunek intensywności oddechowej do intensywności produkcji biomasy, obliczony na podstawie ilorazu absorbancji przy

długościach fali 590nm i 750nm, w celu określenia stresu metabolicznego w poszczególnych wariantach eksperymentalnych. Czy Doktorantka dysponuje wynikami badań również dla długości fali 750 nm? Jeśli tak, to uzasadnione byłoby wykonanie takich analiz na etapie publikowania uzyskanych wyników badań, bowiem uzyskane rezultaty dla  $\lambda 590$  nm wskazują na intensywność oddechową zespołów mikroorganizmów na poszczególnych źródłach węgla, a dopiero wskazany powyżej stosunek  $A_{590nm}/A_{750nm}$  świadczy o metabolicznej sytuacji stresowej ( $>1$ ), potwierdza dobre wykorzystanie substratu ( $<1$ ) lub potwierdza równowagę pomiędzy oddychaniem a tworzeniem biomasy na danym substracie ( $=1$ ).

**Do bardzo cennych i nowatorskich wyników badań zaliczam rezultaty sekwencjonowania następnej generacji,** wskazujące na zmiany zachodzące w zbiorowiskach bakterii ryzosfery roślin spontanicznych pochodzących z odpadów poflotacyjnych i żużlowych. Doktorantka wykazała, że Actinobakteriota należały do dominującego typu bakterii niezrekultywowanych składowisk odpadów. Biorąc pod uwagę znaczenie promieniowców w środowisku oraz ich właściwości, które Doktorantka podkreśliła w rozprawie doktorskiej, bardzo proszę o wskazanie, które Pani zdaniem uzdolnienia tej grupy mikroorganizmów sprawiają, że łatwo mogą się one adaptować do środowisk i siedlisk niedostępnych lub trudno dostępnych dla innych mikroorganizmów, w tym badanych w niniejszej rozprawie terenów zanieczyszczonych. Analizując rysunek 43 dotyczący różnic w składzie mikrobioty poszczególnych gatunków roślin występujących na składowiskach odpadów żużlowych i poflotacyjnych, nasuwa się pytanie czym te zmiany zostały spowodowane? Jaki wpływ na strukturę mikrobiomu ryzosfery miała roślinność, a jaki był efekt zastosowanego do rekultywacji odpadu? Bardzo proszę o wypowiedź odnośnie tych wyników podczas obrony rozprawy doktorskiej.

**Zadanie badawcze nr 3 wniosło wiele istotnych elementów praktycznych, związanych z możliwością zastosowania mikroorganizmów jako elementu wspomagającego fitostabilizację składowisk odpadów toksycznych.** Wykazano, że zastosowane szczepy bakteryjne były efektywne we wspomaganie roślin rosnących na odpadzie żużlowym z dodatkiem fosforanu wapnia, jak również zastosowane jako samodzielny zabieg poprawiały rozwój i plon życicy wielokwiatowej. Do tej części przeprowadzonych badań i uzyskanych rezultatów nasuwa się pytanie czym kierowano się przy wyborze wielkości inokulum szczepów bakteryjnych podczas zabiegów w eksperymencie szklarniowym? Czy Doktorantka testowała wpływ zastosowanych odpadów oraz dodatków wykorzystanych w doświadczeniu wazonowym na przeżywalność szczepów



bakteryjnych stanowiących inokulum? Czy w świetle uzyskanych wyników Doktorantka zalecałaby wprowadzenie inokulum w innej gęstości i w inny sposób?

Niezwykle ważny jest główny wniosek dotyczący badań rekultywowanych składowisk odpadów pohutnicznych, który wskazuje, że zabiegi remediacyjne, obejmujące zastosowanie osadów ściekowych i wapna odpadowego trwale odbudowują aktywność biologiczną podłoża i funkcje gleby związane z aktywnością mikroorganizmów, nadając ekosystemowi tolerancję na warunki środowiskowe spowodowane zanieczyszczeniem. Bardzo ważnym osiągnięciem rozprawy doktorskiej jest również aspekt praktyczny obejmujący efektywność szczepów wyodrębnionych z terenów zdegradowanych we wspomaganie zabiegów fitostabilizacji, uzyskany w warunkach doświadczenia wazonowego, dający perspektywę rozwoju nowych rozwiązań biotechnologicznych bioremediacji gleb zanieczyszczonych.

**Rozprawa doktorska mgr inż. Sylwii Siebielec wyróżnia się wielką starannością przygotowania i przejrzystością opisu poszczególnych eksperymentów, metod i wyników, a zamieszczone w pracy rysunki i fotografie bardzo dobrze dokumentują przeprowadzone badania, nadając opracowaniu czytelność i ład.** Rozprawa zawiera nieliczne błędy literowe, jęzukowe, nieprawidłowe sformułowania i skróty myślowe, np. „mikroflory” (str. 43) powinno być zastąpione zwrotem „mikrobioty”, „geny odpowiedzialne” (str. 51) powinno być zastąpione zwrotem „geny kodujące”, nazwy gatunkowe i rodzajowe bakterii powinny być pisane kursywą np. „z rodzaju *Azotobacter*” (str. 60), „z rodzaju *Streptomyces*” (str. 76), „z rodzaju *Pseudomonas*” (str. 76), „flory bakteryjnej” powinno być zastąpione zwrotem „mikrobioty bakteryjnej” (str. 115), „niezamieszkałych przez rośliny” powinno być zastąpione zwrotem „niezasiedlonych przez rośliny” (str. 147).

**Podczas analizy rozprawy doktorskiej nasunęły mi się pytania, które zadałam powyżej pod poszczególnymi analizowanymi zagadnieniami. Podkreślam jednocześnie, że pytania te mają charakter dyskusyjny, wynikający z przeprowadzonych wielokierunkowych badań oraz ich kompleksowości, a także potwierdzają moje zainteresowanie i bardzo wysoką ocenę recenzowanej rozprawy doktorskiej.** Dodatkowo analiza tej bardzo interesującej rozprawy skłoniła mnie do zadania Doktorantce kilku pytań, którą na podstawie oceny Jej rozprawy postrzegam jako eksperta w obszarze remediacji terenów zanieczyszczonych metalami oraz wykorzystania mikroorganizmów w technologiach fitoremediacyjnych:

1. Jak Doktorantka ocenia perspektywę rozwoju fitoremediacji wspomaganej przez mikroorganizmy, biorąc pod uwagę wyniki Pani badań oraz dane literaturowe? Proszę Doktorantkę o informację czy znane są Pani biopreparaty lub konsorcja

- mikroorganizmów z sukcesem wykorzystywane we wspomaganie remediacji terenów zanieczyszczonych?
2. Jakie są zagrożenia oraz korzyści wynikające ze stosowania zabiegów remediacyjnych terenów zanieczyszczonych metalami?
  3. Bardzo proszę Doktorantkę o skrótowe omówienie zjawiska i skali degradacji gleb w Polsce i Unii Europejskiej, biorąc pod uwagę najnowsze dane dokumentów strategicznych np. Europejskiego Zielonego Ładu czy Misji Glebowej.
  4. Bardzo proszę o przedstawienie w punktach powiązania problematyki Pani rozprawy doktorskiej z dyscypliną rolnictwo i ogrodnictwo.

#### 4. Wniosek końcowy

Doktorantka zaprezentowała bardzo dobrą znajomość problematyki rozprawy, wykazała umiejętność samodzielnego wykonywania badań naukowych, opanowała szeroki warsztat badawczy, a także wykazała się zdolnością do opracowania i interpretacji uzyskanych wyników. Uwagi i pytania zawarte w recenzji mają charakter dyskusyjny i nie wpływają na mój bardzo pozytywny odbiór rozprawy doktorskiej. **Dysertacja doktorska Pani mgr inż. Sylwii Siebielec jest opracowaniem wnoszącym istotny wkład w rozwój nauk rolniczych w obrębie dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo.**

Podsumowując, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Sylwii Siebielec spełnia wymagania ustawy o stopniach i tytule naukowym (art. 190 ust. 3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 18 lipca 2018 r., Dz.U. z 2022 r. poz. 574 ze zm. w związku z art. 179 ust. 6 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce) i stanowi podstawę do nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach o dopuszczenie mgr inż. Sylwii Siebielec do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę bardzo wysoki poziom merytoryczny rozprawy, jej nowatorstwo i kompleksowe zastosowanie zaawansowanych, odpowiednio dobranych i bardzo dobrze opanowanych metod badawczych oraz perspektywy użytecznego wykorzystania uzyskanych wyników, **wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Sylwii Siebielec stosowną nagrodą.**

  
prof. dr hab. Magdalena Frąć