

Toruń, 30.05.2020

Prof. dr hab. Maciej Walczak
Katedra Mikrobiologii
Środowiskowej i Biotechnologii
Wydział Nauk Biologicznych i
i Weterynaryjnych UMK

Rada Naukowa
Instytutu Uprawy
Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
Puławy

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Furtak pt. „Wpływ symulowanej powodzi na bioróżnorodność strukturalną i funkcjonalną mikrobiomu wybranych mad rzecznych” wykonanej w Zakładzie Mikrobiologii Rolniczej Instytutu Uprawy i Gleboznawstwa Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach.

Przedstawiona do recenzji praca została napisana w języku polskim oraz zaopatrzona w streszczenie w języku polskim i angielskim.

Praca została przygotowana w formie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych. W skład pracy wchodzi sześć artykułów naukowych, trzy artykuły badawcze, dwa przeglądowe oraz jeden rozdział monografii. Sumaryczny impact factor artykułów wynosi 7,927, suma punktów MNiSW (według nowej tabeli) to 290 punktów.

Zbiór artykułów został dodatkowo zaopatrzony we wstęp, zwięzły opis podstawowych metod stosowanych w trakcie prac badawczych oraz opis najważniejszych wyników, dyskusję, wnioski i spis literatury. Ta część pracy łącznie obejmuje 60 stron tekstu, 7 tabel oraz 14 figur i 110 pozycji literatury z pośród których znaczna część pozycji powstała w ostatniej dekadzie.

Tytuł pracy dobrze i precyzyjnie odzwierciedla jej treść. Cała praca ma właściwy i typowy układ dla rozpraw doktorskich przygotowywanych w oparciu o zbiór spójnych tematycznie artykułów naukowych. Część opisowa, stanowiąca podsumowanie artykułów podzielona jest na klasyczne rozdziały jak: streszczenie, wstęp, cel pracy, hipotezy badawcze, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, literatura.

Ocena dorobku naukowego

Na dorobek naukowy Doktorantki składają się trzy oryginalne prace badawcze z listy JCR, dwa artykuły przeglądowe oraz jedna monografia.

We wszystkich artykułach badawczych Doktorantka jest pierwszym autorem a ich IF zawiera się w przedziale od 1,186 do 3,851 – są to więc dobre artykuły w znaczących wydawnictwach naukowych. W pracach przeglądowych Doktorantka również jest pierwszym autorem, jedna z nich posiada IF równy 0,298.

Dorobek naukowy Doktorantki oceniam bardzo dobrze.

Ocena merytoryczna rozprawy

Jak już wspomniałem, rozprawa składa się ze spójnego zbioru artykułów naukowych. Z uwagi na fakt, że wszystkie artykuły były opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych, nie będę ponownie ich recenzował. Ograniczę się do ogólnej oceny wartości wyników badań oraz ich opisu w części ogólnej.

Wstęp pracy stanowi wprowadzenie w problematykę badawczą. Autorka stopniowo i systematycznie przedstawia poszczególne elementy składowe problematyki naukowej, które złożą się później na główne zagadnienie badawcze.

Przegląd wiedzy rozpoczyna się od najprostszych informacji dotyczących biologii gleby. W dalszej części tego rozdziału Autorka skupia się na wpływie niektórych czynników fizykochemicznych na skład i aktywność mikrobiomu glebowego, ze szczególnym uwzględnieniem wilgotności. Następnie Autorka przedstawia szereg informacji dotyczących samego zjawiska powodzi. Znajdziemy tu zarówno definicje powodzi jak i dane historyczne dotyczące występowania powodzi w Polsce.

Całość wstępu stanowi logiczny ciąg przyczynowo-skutkowy, co pozwala czytelnikowi zapoznać się z poruszaną problematyką oraz zrozumieć ich znaczenie, co jest niezwykle ważne dla zrozumienia dalszej części pracy.

Dodatkowe informacje można znaleźć we wstępach poszczególnych publikacji. Tu są one bardziej szczegółowe i nawiązują bezpośrednio tematyki danej publikacji.

Na początku części badawczej Autorka stawia bardzo jasny i precyzyjnie przedstawiony cel badań oraz cele szczegółowe, które mają pomóc w zweryfikowaniu postawionych hipotez. Oba cele szczegółowe są jasne, zwarte i zrozumiałe.

Muszę jednak podkreślić, że postawiona hipoteza (przynajmniej ta pogrubiona) w takiej postaci jest trochę zbędna, ponieważ jest z góry potwierdzona. Nagły wzrost wilgotności

poprzez zalanie gleby wodą MUSI zmienić jej parametry fizykochemiczne – choćby doprowadzić do warunków beztlenowych – a co za tym idzie kierunek przemian biochemicznych i w końcu skład mikrobiomu. Inaczej jest już z hipotezą drugą, która w mojej ocenie jest znacznie lepsza i ciekawsza. Bo czy i kiedy struktura taksonomiczna zbiorowiska mikroorganizmów wróci do stanu sprzed zalania nie jest już takie oczywiste.

Moim zdaniem czasami lepiej nie pisać hipotezy, cel precyzuje zamiary badacza i to wystarcza.

Następnie, w części zatytułowanej „Zakres pracy” Autorka precyzuje w jaki sposób będzie weryfikowała hipotezy badawcze. Dzieli całą pracę na etapy i zadania jakie będą realizowane. Tu czytelnik dowiaduje się, że po 56 dniach po ustaniu „zalania gleby wodą” nastąpi weryfikacja czy parametry gleby wróciły do normy. **W tym miejscu mam pytanie do Doktorantki, na jakiej podstawie został wybrany taki okres a nie np. 48 dni albo 96? Oczywiście rozumiem, że jakiś czas eksperymentu należało założyć, ale skąd akurat 56 dni?**

W dalszej części pracy (Materiały i metody badawcze) autorka opisuje w zrozumiały sposób lokalizację miejsc prowadzonych badań, materiał badawczy oraz zastosowane metody analiz chemicznych i mikrobiologicznych.

Wszystkie metody zastosowane w pracy zostały właściwie dobrane do realizacji wytyczonych celów. Poza opisem metod zebranych w części podsumowującej całą pracę, szczegółowe opisy metod jak i uzasadnienie ich użycia znajdujemy w poszczególnych publikacjach.

Przy okazji rozważań na temat zastosowanych metod chciałbym zapytać **dlaczego w przypadku oznaczania aktywności enzymatycznej gleby za każdym razem oznacza się aktywność fosfatazy kwaśnej i alkalicznej, zamiast oznaczyć aktywność fosfataz w pH gleby?**

W rozdziale wyniki Autorka w sposób bardzo jasny i zrozumiały opisuje uzyskane wyniki. Analizy metagenomowe zostały zestawione w bardzo ciekawy sposób, tzn. tak, żeby poszczególne poziomy taksonomiczne można było porównywać w badanych próbach. Miało to na celu „wyłuskanie” korowych dla gleby taksonów, niezależnie od typu gleby czy warunków w niej panujących. To bardzo cenna analiza, której wartość oceniam bardzo wysoko. Niestety moim zdaniem w tym przypadku zamierzonego celu nie udało się uzyskać. Nie jest to jednak wina Doktorantki a raczej, jak sama Autorka zauważa, ciągle zbyt znikomej naszej wiedzy na temat taksonów występujących w glebie, ich dynamiki czy zmienności, co zresztą zostało także wyeksponowane we wnioskach pracy i z czym całkowicie się zgadzam.

W opisie wyników, punkt 9.1.2. „Aktywność biologiczna” - Autorka przedstawia aktywność dehydrogenaz i fosfataz w poszczególnych próbach gleby. Zgodnie z wynikami najwyższa aktywność badanych enzymów była w madzie średniej F1. Przy czym w tej też glebie była najwyższa biomasa mikroorganizmów. Oczywiście jeśli jest najwyższa biomasa mikroorganizmów to i aktywność enzymów pochodzenia mikrobiologicznego jest na ogół najwyższa. **Natomiast ciekawi mnie ja wyglądałaby aktywność poszczególnych enzymów po podzieleniu przez biomasę. Czy nie okaże się, że w próbie F1 jest duuuużo mikroorganizmów, ale stosunkowo leniwych? Proszę o ustosunkowanie się do mojej wątpliwości.**

Moje zdziwienie budzą także wyniki prezentowane na figurze 11 dotyczące aktywność fosfatazy kwaśnej po 7 i 14 dniach od wystąpienia symulowanej powodzi. Na wykresie obserwujemy wyraźny spadek aktywności tych enzymów w próbie F1 i F2, w próbie F3 obniżenie aktywności jest słabsze. Z wyników badań fizykochemicznych wiemy także, że w tych terminach pH zalanej gleby istotnie się obniżyło. **Dlaczego więc aktywność kwaśnej fosfatazy spadła, skoro obniżenie pH powinno stymulować aktywność tego enzymu? Również proszę o odpowiedź na to pytanie.**

Na tym samym wykresie obserwujemy znaczny wzrost aktywności dehydrogenaz komórkowych po 7 i 14 dniach od zalania gleby. Moim zdaniem ten wynik jest dość zaskakujący. Przecież w tej glebie wystąpiły warunki beztlenowe, utlenianie substratów i transport elektronów w ETS był upośledzony. To powinno skutkować obniżeniem aktywności dehydrogenaz. **Proszę Doktorantkę o przynajmniej próbę wyjaśnienia tej zaskakującej sytuacji.**

W dalszej części opisu wyników jak i później w dyskusji Autorka zauważa, że podczas badań generalnie nie stwierdzono skażenia sanitarnego (poza jednym epizodem) po zalaniu gleby wodą. Natomiast w innych pracach opisujących faktyczną powódź obserwowano skażenie sanitarne. **Całkowicie zgadzam się z obserwacjami Autorki, natomiast nie znalazłem uzasadnienia tej sytuacji, więc proszę o wyjaśnienie dlaczego tak się stało?**

Dyskusja jest poprawnie napisana a Autorka dokonuje tu raz jeszcze przeglądu uzyskanych wyników oraz porównuje je z danymi pochodzącymi z literatury. Z dyskusji dowiadujemy się także o analizach, które wykonali inni badacze po przejściu faktycznej powodzi. Jak słusznie zauważa Doktorantka, autorzy innych publikacji niestety nie dysponowali wynikami sprzed powodzi, więc nie mogli dokonać w pełni tożsamyh badań.

Generalnie dyskusja jest bardzo solidnym i rzetelnym fragmentem całej rozprawy. Autorka pomimo niewielkiej ilości podobnych prac umiejętnie dywaguje i dyskutuje z tymi, które udało się znaleźć.

W tym miejscu Autorka bardzo słusznie próbuje analizować skład taksonomiczny i udział poszczególnych grup mikroorganizmów w poszczególnych próbach gleby z uwzględnieniem nie zmiennej części zbiorowiska bakteryjnego. Co jak już pisałem wcześniej miało na celu odnalezienie korowej mikroflory glebowej i co gdyby się udało byłoby wielkim sukcesem.

Pracę kończy 9 wniosków przedstawionych przez Autorkę – moim zdaniem zbyt wiele, część z nich jest zbyt szczegółowa i stanowi powielenie wyników. Tym niemniej wnioski takie jak 2, 8, 9 są bardzo dobre i w pełni uzasadnione.

Podsumowując stwierdzam, że cel rozprawy został zrealizowany i dobrze udokumentowany materiałem faktograficznym.

Najważniejszym osiągnięciem Doktorantki jest moim zdaniem próba wyłuskania mikrobiomu korowego. De facto nie do zakończona sukcesem, ale od czegoś trzeba zacząć i tę próbę oceniam bardzo wysoko.

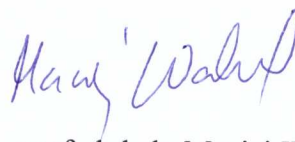
Doktorantce udało się jednoznacznie udowodnić, że wraz z powodzią następują istotne zmiany tak w bioróżnorodności mikroorganizmów jak i w kierunku przekształceń biochemicznych. Co więcej wyniki, świadczą dobitnie, że po powodzi następuje powrót do tego co było.

Poza tym chciałbym zwrócić uwagę i pochwalić staranność przygotowanej pracy. Nie jest ona zupełnie wolna od drobnych błędów edytorskich czy niezręczności językowych (np.: „okres czasu”), tym niemniej praca jest napisana bardzo przejrzysto, z dużą dbałością o jakość językową, co w dzisiejszych czasach nie jest takie oczywiste.

Reasumując stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia wymogi stawiane tego typu pracom zawarte w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku, art. 13 (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami), Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z Dnia 19 stycznia 2018 roku.

Tym samym wnioskuję do Wysokiej Rady Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Furtak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Toruń, 05.06.2020



prof. dr hab. Maciej Walczak