



Szczecin, 27 stycznia 2020 r.

prof. dr hab. inż. Arkadiusz Telesiński
Katedra Bioinżynierii
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17
71-434 Szczecin

Recenzja

Rozprawy doktorskiej mgr. Jarosława Grzędziela pt. „Różnorodność strukturalna i funkcjonalna mikroorganizmów w wybranych typach gleb charakterystycznych dla Polski”.

1. Podstawa formalna recenzji

Recenzję wykonano na zlecenie Zastępcy Przewodniczącego Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, prof. dr. hab. Adama Harasima.

Rozprawa doktorska mgr. Jarosława Grzędziela powstała w Zakładzie Mikrobiologii Rolniczej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, pod kierunkiem dr hab. Anny Gałazki, prof. IUNG-PIB.

2. Ocena problematyki badawczej

Przedstawiona do oceny dysertacja dotyczy bardzo ważnego zagadnienia, związanego z poznaniem różnorodności strukturalnej oraz funkcjonalnej gleb. Jest to szczególnie istotne, gdyż gleba stanowi specyficzny twór ożywiony, w którym stale zachodzą procesy biochemiczne, prowadzone przez drobnoustroje, decydujące o jej żyzności i produktywności. Rozpoznanie bioróżnorodności mikrobiomu glebowego oraz jej powiązanie z właściwościami fizyczno-chemicznymi różnych typów gleb wymaga kompleksowego podejścia, uwzględniającego zarówno określenie składu taksonomicznego mikroorganizmów, a także zrozumienie potencjalnych funkcji, które pełnione są przez indywidualne jednostki, jak również przez całe konsorcja mikroorganizmów. Zastosowanie w tym celu nowoczesnych metod analitycznych wraz sekwencjonowaniem następnej generacji oraz analiz bioinformatycznych stanowi ważne narzędzie do oceny parametrów jakościowych gleb.

Uwzględniając powyższe dane można stwierdzić, że podjęta przez Doktoranta problematyka jest bardzo ważna i aktualna, a wybór tematu rozprawy doktorskiej, pt. „Różnorodność strukturalna i funkcjonalna mikroorganizmów w wybranych typach gleb charakterystycznych dla Polski” jest uzasadniony, zarówno z poznawczego, jak i użytecznego punktu widzenia.



3. Ocena formalna

Mgr Jarosław Grządziel, jako rozprawę doktorską przedstawił zbiór pięciu oryginalnych prac twórczych (trzech prac badawczych i dwóch prac przeglądowych), któremu nadano tytuł „Różnorodność strukturalna i funkcjonalna mikroorganizmów w wybranych typach gleb charakterystycznych dla Polski”. Rozprawa doktorska została zaprezentowana w następujących publikacjach:

I. Prace badawcze:

- i) Grządziel J., Gałązka A. 2018. Microplot long-term experiment reveals strong soil type influence on bacteria composition and its functional diversity. *Applied Soil Ecology* 124: 117-123 (IF 2,786);
- ii) Grządziel J., Gałązka A. 2019. Fungal biodiversity of the most common types of Polish soil in the long-term microplot experiment. *Frontiers in Microbiology* 10: 1-6 (IF 4,019);
- iii) Grządziel J., Furtak K., Gałązka A. 2019. Community-level physiological profiles of microorganisms from different types of soils that are characteristic to Poland – a long-term microplot experiment. *Sustainability* 11: 1-19 (IF 2,075);

II. Prace przeglądowe:

- i) Grządziel J. 2017. Functional redundancy of soil microbiota – Does more always mean better? *Polish Journal of Soil Science* 50: 75-81;
- ii) Gałązka A., Grządziel J. 2016. The molecular-based methods used for studying bacterial diversity in soils contaminated with PAHs. [w:] Larramendy M.L., Soloneski S. (red.), *Soil contamination – current consequences and further solutions*. Wyd. InTech, Rijeka: 85-104.

W jednej z wymienionych prac Doktorant jest jedynym autorem (udział 100%). Pozostałe prace są współautorskie: w trzech z nich Doktorant jest pierwszym autorem, a w jednej drugim autorem. Publikacje ukazały się w latach 2016-2019. Wkład Kandydata w powstanie prac współautorskich wynosił od 50 do 75% i w zależności od pozycji, polegał między innymi na poborze próbek glebowych, wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu statystycznym i bioinformatycznym wyników, przeglądzie literatury i opracowaniu manuskryptu, a także na opisie techniki elektroforezy w gradiencie środka denaturującego, sekwencjonowania nowej generacji oraz przygotowaniu materiałów graficznych. Wszystkie prace badawcze zostały wydane w czasopiśmie cytowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR) o łącznym IF 8,88, co dowodzi, że przedstawiony cykl publikacji stanowi bardzo wartościowe dzieło. Do dokumentacji zostały dołączone oświadczenia o udziale merytorycznym i procentowym Doktoranta i Promotora.

Załączone publikacje zostały poprzedzone opracowaniem zawierającym następujące rozdziały: 1) Wstęp, 2) Hipoteza i cel badań, 3) Materiały i metody,



4) Wyniki badań, 5) Dyskusja i podsumowanie wyników, 6) Wnioski, 7) Literatura, 8) Streszczenie rozprawy w języku polskim, 9) Streszczenie rozprawy w języku angielskim, 10) Spis tabel i rysunków, 11) Słownik pojęć i wykaz skrótów, 12) Materiały dodatkowe. Opracowanie przygotowane zostało w bardzo dobry sposób i zawiera niewielką liczbę drobnych błędów korektorskich. Niemniej jednak po jego lekturze nasuwają mi się trzy uwagi:

- 1) W podrozdziale 1.2. (str. 9-12) Doktorant podaje historię i opis obiektu doświadczalnego. Czy nie lepiej byłoby zamieścić te informacje w rozdziale Materiały i metody badawcze?
- 2) W podrozdziale 3.3 (str. 19) niezbyt precyzyjne wydaje mi się określenie „...fragment o długości 40 nukleotydów składający się wyłącznie z guaniny i cytozyny...”. Sugerowałbym użycie np. określenia „...fragment o długości 40 nukleotydów zawierających z zasad azotowych wyłącznie guaninę i cytozynę...”
- 3) W całym rozdziale 3 proponowałbym wprowadzenie odwołań do tabeli, podając w nawiasie „Tabela” i jej kolejny numer, zamiast używania określenia „w tabeli poniżej”.

Powyższe uwagi mają charakter dyskusyjny i w niczym nie obniżają wartości rozprawy doktorskiej. Rozprawa jest nowatorska, bardzo starannie przygotowana, prezentuje wysoki poziom merytoryczny, wnosi do literatury oryginalne wyniki mające nie tylko znaczenie poznawcze, ale również duże znaczenie praktyczne.

Poszczególne prace składające się na rozprawę doktorską powstały na podbudowie dobrej koncepcji badań. Zostały starannie opracowane i dostosowane do wymagań wydawniczych. Stanowią one spójną, logiczną całość.

Dodatkowo, w związku z dużym postępem narzędzi bioinformatycznych, baz referencyjnych, z także brakiem satysfakcjonujących wyników w przypadku analizy bioróżnorodności strukturalnej grzybów, Doktorant podczas przygotowania całej rozprawy opracował ponownie otrzymane wcześniej dane i wyniki tych analiz bioinformatycznych zamieścił w opracowaniu. Udowodnił w ten sposób, że posiada aktualną wiedzę do właściwej oceny otrzymanych wyników badań, którą systematycznie poszerza.

4. Ocena merytoryczna

Nadrzędnym celem rozprawy doktorskiej była analiza różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych w wybranych typach gleb charakterystycznych dla Polski, w tym określenie mikrobiomu rdzeniowego, wraz z oceną zależności między właściwościami fizyczno-chemicznymi gleb a zasiedlającymi je drobnoustrojami, co osiągnięto poprzez:

- 1) ocenę strukturalnej bioróżnorodności bakterii w zależności od typu gleby (praca nr 1);



-
- 2) ocenę strukturalnej różnorodności grzybów w zależności od typu gleby (praca nr 2);
 - 3) ocenę bioróżnorodności funkcjonalnej i opis profilu metabolicznego mikroorganizmów glebowych (praca nr 3);
 - 4) przegląd literatury dotyczącej tematyki różnorodności funkcjonalnej w środowisku z uwzględnieniem środowiska glebowego (praca nr 4);
 - 5) charakterystykę nowoczesnych metod molekularnych, takich jak sekwencjonowanie następnej generacji oraz elektroforeza w gradiencie środka denaturującego (praca 5).

Cele szczegółowe recenzowanej rozprawy obejmowały:

- 1) określenie mikrobiomu rdzeniowego bakterii i grzybów – w zależności od typu gleby oraz mikrobiomu wspólnego dla wszystkich analizowanych gleb;
- 2) wytypowanie mikroorganizmów wskaźnikowych dla gleb o wysokiej i niskiej aktywności biologicznej, które mogą być wykorzystywane w bioindykacji stanu gleby.

Badania przeprowadzono na próbkach gleb pobranych z głębokości 0-20 cm, w latach 2016-2018, z mikropoletek doświadczalnych założonych w 1881 roku w Puławach. Mikropoletki przedzielone są betonowymi ścianami i wypełnione ośmioma typami gleb: czarną ziemią, mądą brunatną, rędziną brunatną, glebą brunatną eutroficzną, glebą płową, glebą rdzawą (I i II) oraz glebą brunatną dystroficzną. Cztery z tych typów charakteryzują się składem granulometrycznym gliny piaszczystej, dwie – gliny lekkiej i dwie – piasku gliniastego. Z pobranych próbek wyizolowano całkowite DNA, a następnie określono ogólny profil różnorodności mikroorganizmów techniką elektroforezy w gradiencie środka denaturującego – DGGE (badania nieopublikowane) oraz ocenę różnorodności strukturalnej bakterii i grzybów za pomocą metody sekwencjonowania następnej generacji – NGS. Różnorodność funkcjonalną oceniono za pomocą metody Biolog z wykorzystaniem płytek ECO oraz płytek FF. Otrzymane wyniki zostały opracowane za pomocą narzędzi statystycznych i bioinformatycznych.

Poznanie bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej w różnych typach gleb, które było przedmiotem rozprawy doktorskiej jest bardzo cenne. Dlatego też podjęte przez Autora badania stanowią ważną i bardzo aktualną tematykę badawczą. Tytuł ocenianej rozprawy doktorskiej jest precyzyjny i w pełni ujmuje jej treść, a uzyskane wyniki odpowiadają na cel badań.

Publikacje składające się na rozprawę doktorską zostały dobrze zredagowane i przedyskutowane z literaturą. Wszystkie badania zostały wykonane poprawnie pod względem metodycznym.



5. Najważniejsze osiągnięcia rozprawy doktorskiej

Dobrze zaplanowane badania, szeroki wachlarz nowoczesnych metod analitycznych, bardzo dobre opracowanie bioinformatyczne i statystyczne wyników oraz odpowiednie przygotowanie Doktoranta umożliwiło osiągnięcie wielu cennych i wartościowych wyników. Ważnym elementem pracy było wykazanie, że skład gatunkowy mikroorganizmów glebowych był ściśle związany z właściwościami fizyczno-chemicznymi gleb oraz, że gleby o podobnych właściwościach posiadały zbliżony skład gatunkowy bakterii i grzybów. Każdy typ gleby posiadał unikatowy mikrobiom rdzeniowy oraz mikrobiom wspólny dla różnych typów gleb. Doktorant wykazał, że do mikroorganizmów tworzących wspólny mikrobiom bakteryjny można zaliczyć rodzaje: *Conexibacter*, *Bacillus*, *Saccharopolypora*, *Rhodoplanes*, *Azospirillum*, *Paenibacillus*, *Streptomyces*, *Gemmatimonas*, *Mycobacterium*; podczas gdy wspólny mikrobiom grzybowy zawierał głównie rodzaje: *Fusarium*, *Solicozozyma*, *Mortierella*, *Tetracladium* i *Mycosphaerella*.

Cennym aspektem pracy jest stwierdzenie, że większa bioróżnorodność środowiska glebowego była ściśle związana z większą ilością potencjalnych funkcji pełnionych przez mikroorganizmy w glebie. Ponadto gleby kwaśne charakteryzowały się mniejszą różnorodnością glebową, a także mniejszą aktywnością metaboliczną w porównaniu do gleb o pH zbliżonym do neutralnego.

Do najważniejszych poznawczych oryginalnych osiągnięć rozprawy doktorskiej zaliczam również wykazanie, że zastosowanie nowoczesnych metod analitycznych wraz sekwencjonowaniem następnej generacji i analiz bioinformatycznych stanowi cenne i czułe narzędzie do oceny parametrów jakości gleb.

Oceniając poszczególne publikacje, składające się na rozprawę doktorską, stwierdzam, że Pan mgr Jarosław Grządziel w pełni opanował metody prowadzenia badań naukowych oraz techniki analityczne i bioinformatyczne. Posiadał umiejętność interpretacji i dyskusji wyników. Uzyskane wyniki i wyciągnięte na ich podstawie wnioski odpowiadają na postawiony cel główny oraz cele szczegółowe rozprawy. Publikacje oryginalne stanowią spójną całość. Dlatego też całość sprawia, że zbiór publikacji składających się na rozprawę doktorską wzajemnie się uzupełnia. Autor udowodnił, że posiada wiedzę do właściwej oceny otrzymanych wyników badań, a także w pełni opanował umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Stwierdzam, że zbiór publikacji powiązanych ze sobą tematycznie stanowi oryginalne osiągnięcie naukowe i wnosi do literatury przedmiotu wiele istotnych informacji poszerzających stan wiedzy na temat różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej charakterystycznych dla Polski typów gleb. Jest to szczególnie istotne, gdyż podjęte przez Doktoranta badania dostarczają wiele nowych i dotychczas



nieznanych w literaturze informacji. Praca wnosi nowe wartości do dyscypliny naukowej rolnictwo i ogrodnictwo.

6. Wniosek końcowy

Rozprawa doktorska mgr. Jarosława Grzędziela, pt. „Różnorodność strukturalna i funkcjonalna mikroorganizmów w wybranych typach gleb charakterystycznych dla Polski” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018, poz. 1668) oraz Ustawę z dn. 2 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018, poz. 1669). Pan mgr Jarosław Grzędziel w przedstawionej rozprawie udokumentował spełnienie wszystkich wymogów stawianych rozprawom doktorskim. Przedstawiona do recenzji rozprawa jednoznacznie kwalifikuje mgr. Jarosława Grzędziela do ubiegania się o stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie mgr. Jarosława Grzędziela do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z uwagi na wielkie walory poznawcze, wynikające z kompleksowości i dogłębności badań wraz z ich dużą wartością poznawczą i utylitarną wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr. Jarosława Grzędziela.

Aleksander Teleniński