



UNIWERSYTET ROLNICZY
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 24/28
Tel. + 48 12 662-40-96
E-mail: km@ur.krakow.pl

Kraków, dnia 25 maja 2020 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Autor: mgr Karolina Furtak

Tytuł pracy:

**„Wpływ symulowanej powodzi na bioróżnorodność strukturalną i funkcjonalną
mikrobiomu wybranych mad rzecznych”**

Promotor: dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB

Promotor pomocniczy: dr inż. Jacek Niedźwiecki

Praca wykonana w Zakładzie Mikrobiologii Rolniczej Instytutu Uprawy, Nawożenia i
Gleboznawstwa Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Recenzja została przygotowana w odpowiedzi na pismo Zastępcy Przewodniczącego Rady
Naukowej Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowego Instytutu
Badawczego w Puławach prof. dr hab. Adama Harasima z dnia 17 kwietnia 2020 roku,
którym poinformowano mnie, że decyzją Rady Naukowej zostałam powołana
na recenzentkę ww. pracy.

Problematyka badawcza

Kłęski żywiołowe, takie jak pożary lasów i runi łąkowej (często jako skutek wypalania
traw) czy też powodzie i długotrwałe podtopienia gruntów, w sposób istotny mogą wpływać na
środowisko glebowe powodując zmiany ilościowe i jakościowe w populacji organizmów je
zasiedlających, co w konsekwencji może skutkować obniżeniem żyzności i produktywności
gleby.

Mikroorganizmy to najszybciej rosnący i reagujący na zmiany parametrów środowiska składnik biocenozy gleb, dlatego też wykorzystanie wskaźników mikrobiologicznych stosunkowo szybko pozwala ocenić stan ekologiczny gleby. Analiza takich parametrów jak liczebność drobnoustrojów z różnych grup funkcjonalnych czy aktywność enzymów glebowych daje nam wiedzę na temat jej żyzności i urodzajności.

Środowisko glebowe stanowi ogromny rezerwuar drobnoustrojów nadal, pomimo wieloletnich analiz, niedostatecznie zbadanych, jednak nowe techniki badawcze i zdobycze nauki ostatnich lat pozwalają coraz lepiej poznać bogactwo organizmów glebowych, ich rolę i funkcje, wzajemne zależności oraz czynniki wpływające na ich wzrost i rozwój.

Przedstawiona do recenzji praca, przygotowana przez mgr Karolinę Furtak, dotyczy istotnego problemu ekologicznego związanego ze zmianami bioróżnorodności zachodzącymi w populacji mikroorganizmów glebowych w odpowiedzi na zmienne warunki wywołane symulowaną powodzią.

Podjęty temat badawczy stanowi istotny wkład w poszerzenie wiedzy z zakresu mikrobiologii środowiskowej, poznanie wielogatunkowych społeczności drobnoustrojów, które jako zbiorowość odpowiadają za funkcjonalność środowiska glebowego, a także poznanie liczebności, aktywności oraz zróżnicowania strukturalnego i funkcjonalnego mikroorganizmów glebowych bezpośrednio wpływających na żyzność gleby.

Wśród czynników, które najistotniej wpływają na różnorodność konsorcjów drobnoustrojów wymienia się dostępność tlenu oraz wilgotność gleby. Naturalne zmiany wilgotności gleby związane m.in. z cyklicznością pór roku czy opadami atmosferycznymi, bez wątpienia wpływają na metabolizm poszczególnych mikroorganizmów, jednak pojawianie się długoterminowych zastoju wody znacząco może wpływać na całkowitą aktywność biologiczną gleby.

Powódź oraz podtopienia mogą wprowadzać zmiany w rodzimych mikrobiomach glebowych, które dotąd nie były szerzej analizowane. Woda stagnująca przez dłuższy okres czasu, szczególnie na terenach, gdzie tego typu zjawisko występuje tylko epizodycznie, może powodować ogromne zmiany w niektórych niszach ekologicznych a skutki okresowych nadmiarów wody w glebie są dotkliwe w szczególności na glebach użytkowanych rolniczo.

W literaturze można znaleźć wyniki badań dotyczących zmian parametrów fizykochemicznych oraz parazytologicznych gleb w warunkach powodziowych, natomiast brakuje danych dotyczących dynamiki zmian poszczególnych grup mikroorganizmów oraz monitoringu dynamiki ich funkcji i charakteru tych zmian. Dotychczasowe badania mikroorganizmów, bazujące na metodach hodowlanych eliminowały znaczną część

drobnoustrojów, uznawanych za niehodowalne i właściwie dotychczas niezbadanych żadnymi dostępnymi technikami.

Nadzieję na lepsze poznanie populacji organizmów glebowych daje rozwijająca się w ciągu ostatnich lat metagenomika, będąca metodą analizy genomu złożonego z ogółu mikroorganizmów zasiedlających dane środowisko, co umożliwia poznanie nieznanych dotąd drobnoustrojów oraz śledzenie zmian zachodzących w mikrobiomie gleby.

Prace mgr Karoliny Furtak wpisują się w bieżącą problematykę badań związanych z metagenomiką, a przedstawione w publikacjach wyniki doświadczeń wykonanych metodami tradycyjnymi (oznaczanie biomasy drobnoustrojów i aktywności enzymów glebowych) oraz analiz DNA pochodzącego z próbek gleby pozwalają na wgląd w różnorodność genetyczną drobnoustrojów i umożliwiają analizę składu populacji oraz różnorodności funkcjonalnej mikrobiomu pedosfery. Podjęta w rozprawie tematyka jest aktualna i doskonale wpisuje się w bieżące potrzeby zarówno rolnictwa jak i ochrony środowiska.

Mając na uwadze różnorodność oraz szeroki zakres badań wykonanych w ramach przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej pozytywnie oceniam opracowanie, które jest nowatorskie i moim zdaniem wchodzi w zakres dziedziny nauk rolniczych i mieści się w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo.

Ocena pracy pod względem formalnym i strukturalnym

Przedstawiona do recenzji praca zgodnie z artykułem 13.2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późniejszymi zmianami (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.), Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków prze-prowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U., poz. 261) stanowi zbiór 6. publikacji tematycznie związanych z tytułem „Wpływ symulowanej powodzi na bioróżnorodność strukturalną i funkcjonalną mikrobiomu wybranych mad rzecznych”

Na osiągnięcie autorki, przedstawione w dysertacji, składają się następujące prace:

1. Furtak K., Grządziel J., Gałązka A., Niedźwiecki J. (2019): *Analysis of Soil Properties, Bacterial Community Composition, and Metabolic Diversity in Fluvisols of a Floodplain Area*. Sustainability, 11, 14, 3929; ISSN 2071-1050, doi: 10.3390/su11143929 (IF = 2592)

2. Furtak K., Gałązka A., Niedźwiecki J. (2020): *Changes in soil enzymatic activity caused by hydric stress*. Polish Journal of Environmental Studies, 29, 4, 1-8; ISSN 1230-1485, doi: <https://doi.org/10.15244/pjoes/112896> (IF = 1,186)
3. Furtak K., Grządziel J., Gałązka A., Niedźwiecki J. (2020): *Prevalence of unclassified bacteria in the soil bacterial community from floodplain meadows (fluvisols) under simulated flood conditions revealed by a metataxonomic approach*. Catena, 188, 104448, ISSN 0341-8162, doi: 10.1016/j.catena.2019.104448 (IF = 3,851)
4. Furtak K., Gałązka A. (2019): *Edaphic factors and their influence on microbiological biodiversity of the soil environment*. Postępy Mikrobiologii - Advancements of Microbiology, 58, 4, 375-384; ISSN 0079-4252, doi: 10.21307/PM-2019.58.4.375 (IF = 0,298)
5. Furtak K., Gałązka A. (2019): *Enzymatic activity as a popular parameter used to determine the quality of the soil environment*. Polish Journal of Agronomy, 37, 22-30; ISSN 2081-2787, doi: 10.26114/pja.iung.385.2019.37.04
6. Furtak K. (2017): *Analiza profilu metabolicznego populacji mikroorganizmów z zastosowaniem techniki ECOplate Biolog*. Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce, Nauki Przyrodnicze, Część I; Wydawnictwo Młodzi Naukowcy, Poznań 2017; Rozdział 5, Str. 31-37; ISBN 978-83-65362-48-3

Trzy artykuły są autorskimi pracami badawczymi z wiodącym udziałem Doktorantki, trzy kolejne publikacje to prace przeglądowe. Wszystkie artykuły (5 prac) składające się na opracowanie są publikacjami współautorskimi, Doktorantka jest natomiast jedyną autorką rozdziału w monografii. Współautorami artykułów, oprócz Doktorantki, są promotorka pracy oraz promotor pomocniczy - co świadczy o jej umiejętności współpracy i pracy w zespole.

Doktorantka jest pierwszą autorką we wszystkich pracach, a jej udział w przygotowaniu publikacji jest dominujący i określony został na poziomie: 75%, 80% oraz 85%, w kolejnych dwóch na 95% i jednej na 100%. Do dokumentacji dołączone zostały stosowne oświadczenia współautorów określające wkład i rolę mgr Karoliny Furtak w procesie tworzenia prac, która polegała zarówno na stworzeniu koncepcji doświadczeń, prowadzeniu badań, wykonaniu analiz i opracowaniu wyników ale także przygotowaniu manuskryptów do druku i pełnieniu roli autora korespondującego. Artykuły wchodzące w skład pracy doktorskiej ukazały się drukiem w latach 2017-2020, cztery z publikacji składających się na osiągnięcie autorki zostały wydane w czasopismach z listy A cytowanych w bazie JCI (Journal Citation Reports)

- ich sumaryczny IF z roku wydania wynosi 7,927, jedna w czasopiśmie z listy B, jedna praca przeglądowa to rozdział w monografii. Liczba punktów wszystkich prac znajdujących się na listach czasopism punktowanych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego to 95 - według punktacji MNiSW zgodnej z rokiem wydania, a 290 zgodnie z punktacją w wykazie czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych stanowiącym załącznik do komunikatu MNiSW z dnia 31.07.2019 r.

Zestawienie zostało uzupełnione przez autorkę o wstęp, przegląd literatury (na który składają się rozdziały od 2 do 5), hipotezę i cel pracy, zakres pracy, materiały i metody badawcze, wyniki badań, dyskusję i podsumowanie wyników, wnioski oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. W opracowaniu uwzględniono również wykaz skrótów i akronimów, wykaz figur i tabel oraz literaturę i informacje o materiałach dodatkowych

Na szczególną uwagę zasługuje duża estetyka pracy oraz staranna oprawa graficzna.

Pod względem formalnym opracowanie nie wzbudza zastrzeżeń – chociaż mam drobne uwagi do struktury ponieważ wydaje mi się, że rozdziały od 2 do 5 można było przedstawić jako rozdział 2. „Przegląd literatury” nadając im kolejno numeracje 2.1. Środowisko glebowe i jego mikrobom; 2.2. Wilgotność gleby; 2.3. Wpływ nadmiernej wilgotności na bakterie glebowe; 2.4. Powódź.

Ocena pracy pod względem metodycznym

Prace przedstawione w ramach ocenianej rozprawy doktorskiej zostały, w mojej ocenie, przygotowane poprawnie a podjęte badania były przekrojowe i starannie przemyślane od strony metodycznej.

Na tym etapie Dyplomantka musiała wykazać się znajomością nie tylko tradycyjnych metod ilościowych analiz mikrobiologicznych (oznaczanie liczebności i biomasy mikroorganizmów), badań biochemicznych (aktywność enzymatyczna, testy Biolog), czy fizykochemicznych ale także najnowszych technik wykorzystywanych w badaniach molekularnych. Ilość uzyskanych wyników jest przytłaczająca nawet dla czytelnika więc zapewne ich analiza bioinformatyczna i statystyczna a także interpretacja stanowiła duże wyzwanie dla Doktorantki. Rezultaty wszystkich wykonanych badań przedstawiono graficznie na rycinach (wykresy, diagramy, schematy) lub zestawiono w tabelach w poszczególnych publikacjach. Moim zdaniem analiza danych jest imponująca: dogłębna i obszerna.

Autorka zaprezentowała także trzy prace przygotowane na podstawie literatury dotyczące czynników wpływających na bioróżnorodność mikroorganizmów glebowych, wykorzystania enzymów glebowych jako wskaźników oceny jakości gleby oraz wykorzystania testów biochemicznych (ECOpate Biolog) w ocenie profilu metabolicznego populacji drobnoustrojów. Prace te stanowią doskonałe tło i/lub uzupełnienie informacji zawartych w pracach badawczych.

Ocena merytoryczna pracy

Autorka pracy postawiła sobie ambitny cel dokonania oceny zmian bioróżnorodności strukturalnej i funkcjonalnej społeczności bakterii glebowych zachodzących pod wpływem krótkotrwałej powodzi w wybranych madach rzecznych w oparciu o analizę zmian zachodzących po ustąpieniu warunków symulowanej powodzi i ocenę możliwości powrotu aktywności biologicznej gleb do stanu sprzed wystąpienia stresu hydrologicznego oraz porównanie aktywności biologicznej oraz bioróżnorodności bakterii glebowych wybranych mad rzecznych z dorzecza Wisły, w tym próbę określenia ich mikrobiomu rdzeniowego.

Przygotowując badania Doktorantka założyła hipotetycznie, że nagłe warunki zwiększonej wilgotności w glebie doprowadzają do istotnych różnic w składzie oraz funkcji społeczności bakterii glebowych, a po określonym czasie i spadku wilgotności w glebie warunki mikrobiologiczne mogą samoistnie powrócić do stanu sprzed wystąpienia stresu hydrologicznego. Teoretyczne podstawy związane z celami badawczymi mgr Karolina Furtak przedstawiła we wstępach do wchodzących w skład doktoratu prac badawczych w których zaprezentowała wyniki badań własnych i trzech pracach przeglądowych.

Zamierzony cel badawczy Doktorantka osiągnęła przeprowadzając szereg analiz laboratoryjnych realizowanych w dwóch etapach. W etapie pierwszym badała właściwości fizykochemiczne oraz biologiczne wybranych gleb położonych na naturalnych terenach zalewowych i analizowała skład zasiedlających je społeczności bakterii. W drugim etapie przygotowała doświadczenie polegające na symulacji powodzi w kontrolowanych warunkach i oceniała stan środowiska glebowego w różnych terminach od zalania oraz po 56 dniach od ustąpienia wody.

Wyniki badań z pierwszego etapu zostały opublikowane w pracy z 2019 r. pt.: *Analysis of Soil Properties, Bacterial Community Composition, and Metabolic Diversity in Fluvisols of a Floodplain Area*. Natomiast wyniki pochodzące z realizacji drugiego etapu badań znalazły się w publikacjach z 2020 roku: „Changes in soil enzymatic activity caused by hydric stress” oraz „Prevalence of unclassified bacteria in the soil bacterial community from floodplain

meadows (fluvisols) under simulated flood conditions revealed by a metataxonomic approach”.

Tytuł przedstawionej do recenzji rozprawy odpowiada zakresowi badań wykonanych w trakcie jej realizacji. Chociaż w pracy przedstawiono liczne wyniki analiz to z całą pewnością wiele zagadnień nadal pozostaje otwartych i daje Doktorantce możliwości na prowadzenie dalszych wnikliwych badań.

Mając na uwadze dane zamieszczone w publikacjach, uważam, że postawiony cel pracy został zrealizowany, a uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie stosownych wniosków. Doktorantka wykazała, że badane mady rzeczne różniły się istotnie pod względem wszystkich badanych parametrów ale, co ciekawe, większe zróżnicowanie struktury mikroorganizmów oraz ich potencjał metaboliczny w madach rzecznych nie był bezpośrednio związany z żyznością gleby. Symulowana powódź wpływała znacząco na zmiany odczynu gleby, aktywność dehydrogenaz, a także na potencjał metaboliczny i różnorodność strukturalną zbiorowisk bakterii glebowych. Obniżenie odczynu gleby oraz wzrost aktywności dehydrogenaz wskazywały na powstanie warunków beztlenowych i intensyfikację procesów fermentacyjnych; wzrosła także liczebność anaerobów. Nie wszystkie gleby powróciły do stanu sprzed powodzi po upływie 56 dni od ustąpienia zalania.

Do najważniejszych wniosków wynikających z pracy należą trzy istotne informacje: po pierwsze, że w wyniku stresu powodzi w madach rzecznych zróżnicowanie strukturalne społeczności bakterii oraz ich potencjał metaboliczny uległy zwiększeniu; po drugie fakt, że choć mady rzeczne różnią się wieloma parametrami posiadają rodzimy mikrobiom, którego przedstawiciele byli obecni w glebach przez cały okres trwania doświadczenia; oraz po trzecie, że nie zidentyfikowano ponad 90% sekwencji bakterii – co jednoznacznie potwierdza tezę, że w świecie bakterii glebowych kryje się wciąż wiele niewiadomych.

Opublikowane prace stanowią istotny wkład Doktorantki w literaturę przedmiotu dotyczącą mikrobiomu gleb i roli drobnoustrojów w środowisku glebowym.

W opracowaniu znalazłam jedynie nieliczne błędy (np.: „drobnoustroje niehodowlane” gdy powinno być „niehodowlalne”, obecnie używamy również raczej określeń mikrobiota, mikrobiom rezygnując z określenia mikroflora) nie mające jednak wpływu na wysoki poziom merytoryczny doktoratu. Szkoda, że we wnioskach autorka nie odniosła się jednoznacznie do sformułowanej hipotezy badawczej.

Wniosek końcowy

Przedłożona do oceny praca doktorska pt. „Wpływ symulowanej powodzi na bioróżnorodność strukturalną i funkcjonalną mikrobiomu wybranych mad rzecznych” przygotowana przez mgr Karolinę Furtak stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jest nowatorska i wskazuje, że autorka posiada niezbędną wiedzę teoretyczną i duże umiejętności praktyczne z zakresu nauk rolniczych, zdolna jest do planowania eksperymentów, doskonale opanowała techniki laboratoryjne oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy badawczej w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo, spełniając tym samym wymagania stawiane pracom doktorskim określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65 poz. 595 z późn. zm.).

W związku z powyższym wnioskuję do członków Rady Naukowej Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach o dopuszczenie mgr Karoliny Furtak do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Mając na uwadze nowatorstwo pracy i jej wysoki poziom merytoryczny wnoszę o jej wyróżnienie.

Dr hab. inż. Maria J. Chmiel, prof. UR

