



UNIWERSYTET
WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE

Prof. dr hab.
Jadwiga Wyszowska

Recenzja

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

1. Wprowadzenie

Recenzję wykonano na zlecenie Z-cy 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 Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowym Instytucie Badawczym w Zakładzie Mikrobiologii Rolniczej w Puławach, pod kierunkiem dr. hab. Anny Gałązki, prof. IUNG-PIB.

2. Ocena problematyki badawczej

Przedstawiona do oceny dysertacja dotyczy bardzo ważnego zagadnienia, związanego z rozpoznaniem różnorodności mikroorganizmów glebowych. Jest to szczególnie istotne zważywszy, że aktywność mikrobiologiczna gleby, obok takich elementów jak: budowa profilu glebowego, właściwości fizyczne, właściwości chemiczne, mikroklimat, jest podstawowym elementem decydującym o żyzności gleb. Drobnoustroje i produkowane przez nie enzymy decydują o transformacji materii organicznej wprowadzonej do gleby, wpływają na proces humifikacji, pełnią kluczową rolę w cyklach biogeochemicznych wielu makro- i mikroelementów. Dlatego też w ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się roli gleb w prawidłowym funkcjonowaniu ekosystemów w życiu człowieka. 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 utylitarnego punktu widzenia.

UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Katedra Mikrobiologii
Pl. Łódzki 3, 10-727 Olsztyn
tel. 89 523 49 38 jadwiga.wyszowska@uwm.edu.pl

3. Ocena formalna

Mgr Jarosław Grządziel, jako rozprawę doktorską, zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie i nauce (Dz. U. poz. 1668), przedstawił zbiór 5 opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, poprzedzony 64 stronicowym opracowaniem, który można uznać za autoreferat. Stanowi on zwięzłe omówienie rezultatów badań zawartych w następujących publikacjach:

1. **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**; 140 pkt MNiSW).
2. **Grządziel J.**, Gałązka A. 2019. *Fungal biodiversity of the most common types of Polish soil in a long-term microplot experiment*. Frontiers in Microbiology, 10: 1-6 (**IF = 4,019**; 100 pkt MNiSW).
3. **Grządziel J.**, Furtak K., Gałązka A. 2019. *Community-level physiological profiles of microorganisms from different types of soil that are characteristic to Poland - a long-term microplot experiment*. Sustainability, 11: 1–19 (**IF = 2,075**; 70 pkt MNiSW).
4. **Grządziel J.** 2017. *Functional redundancy of soil microbiota – Does more always mean better?* Polish Journal of Soil Science, 50: 75–81 (20 pkt MNiSW).
5. 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 (str. 85 – 104). Rijeka (Chorwacja): InTech (20 pkt MNiSW).

Załączone publikacje zostały poprzedzone opracowaniem zawierającym następującą strukturę: wstęp, hipoteza i cel badań, materiały i metody badawcze, wyniki badań, dyskusja i podsumowanie wyników, wnioski, literatura, oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Całość uzupełnia słownik pojęć i wykaz skrótów, kopie opublikowanych prac wchodzących w skład zbioru publikacji oraz oświadczenia promotora i autora rozprawy doktorskiej. Rozprawa doktorska wraz z kopiami zbioru publikacji liczy 144 strony.

Trzy spośród wyżej wymienionych publikacji to oryginalne prace twórcze wydane w latach 2018-2019 w czasopismach cytowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR). Ich sumaryczny *Impact Factor*, zgodnie z rokiem wydania, wynosi **8,88**, a suma punktów według MNiSW – **310**. Są to zatem wskaźniki bardzo dobre i dowodzą, że oryginalne publikacje twórcze stanowią istotną i bardzo wartościową część rozprawy doktorskiej. Wszystkie prace są współautorskie, a Doktorant jest pierwszym autorem. Wkład Kandydata w ich powstanie

wynosił 70-75%. Świadczy to o dojrzałości naukowej Doktoranta oraz potwierdza Jego kluczową rolę na wszystkich etapach powstawania rozprawy. Udział Doktoranta w opracowaniu tych publikacji polegał na pobieraniu próbek gleby, izolacji DNA, opracowaniu statystycznym i bioinformatycznym wyników badań, opracowaniu przeglądu literatury i przygotowaniu tekstu manuskryptów. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że wyniki badań stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej ukazały się drukiem w renomowanych czasopismach, takich jak: Applied Soil Ecology, Frontiers in Microbiology i Sustainability. Doskonałym uzupełnieniem oryginalnych prac twórczych są dwie publikacje przeglądowe, stanowiące drugą część rozprawy. Jedna z nich jest wyłącznego autorstwa Doktoranta, a druga jest współautorska, w której udział Kandydata wynosił 50%. Jedna praca przeglądowa ukazała się w czasopiśmie z listy B, a druga jest rozdziałem w książce. Obie publikacje przeglądowe pozwoliły udowodnić, że Doktorant, zgodnie Art. 187. 1. ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie i nauce wykazał się ogólną wiedzę teoretyczną w reprezentowanej dyscyplinie. Do dokumentacji zostały dołączone oświadczenia o udziale merytorycznym i procentowym Doktoranta i Promotora. Z oświadczeń jednoznacznie wynika, że wkład Doktoranta był istotny, zarówno w wykonaniu części eksperymentalnej, jak i opracowaniu i interpretacji wyników badań.

4. Ocena merytoryczna

Tytuł ocenianej rozprawy doktorskiej jest dość precyzyjny i prawie w pełni ujmuje jej treść, a uzyskane wyniki odpowiadają na cel badań. Jedyną wątpliwość może budzić odniesienie w tytule do gleb Polski. Byłoby lepiej gdyby ograniczyć go do brzmienia „Różnorodność strukturalna i funkcjonalna mikroorganizmów w wybranych typach gleb”. Na podstawie badań mikropoletkowych, przeprowadzonych w jednej miejscowości, ryzykowne jest odnoszenie wyników do obszaru Polski.

Pierwszy rozdział rozprawy doktorskiej stanowi „Wstęp”, w którym Doktorant opisuje bioróżnorodność środowiska glebowego, szczególną uwagę zwracając na różnorodność strukturalną i funkcjonalną. W rozdziale tym dokonał również opisu obiektu doświadczalnego i uzasadnił jego wybór do badań. W kolejnej części pracy przedstawiono hipotezę i cel badań, który został sformułowany poprawnie, wyznaczając kierunek badań. Weryfikację hipotezy badawczej oparto na powiązanych logicznie trzech etapach badań, adekwatnych do przyjętego celu rozprawy doktorskiej, czyli określenia różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikroorganizmów w wybranych typach gleb. Kolejny rozdział „Materiały i metody badawcze” obejmuje opis materiału badawczego oraz metody badań, które zostały wykorzystane

w przedstawionych publikacjach składających się na rozprawę doktorską. Omówiono szczegółowo sposób izolacji DNA, elektroforezę w gradiencie środka denaturującego, sekwencjonowanie następnej generacji, różnorodność funkcjonalną bakterii i grzybów oraz analizę bioinformatyczną i statystyczną wyników. Na podkreślenie zasługuje odpowiedni dobór metod, tj. sekwencjonowanie następnej generacji, profilowanie metaboliczne oraz profilowanie fenotypowe mikroorganizmów, zapewniających kompleksowość badań. Taka konstrukcja metodyczna pozwoliła na rozpoznanie różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikroorganizmów w badanych glebach. Bardzo wartościowe jest zdeponowanie sekwencji DNA w ogólnodostępnych bazach.

W rozdziale „Wyniki badań” Doktorant opisał w sposób syntetyczny rezultaty badań przedstawione w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Zaprezentował także wyniki wstępne (str. 36-37), których nie publikował. Wydaje mi się, że korzystniej dla rozprawy byłoby odniesienie się do wyników wstępnych w rozdziale „Wstęp”, a rozdział „Wyniki badań” skonstruować wyłącznie na podstawie wyników zawartych w zbiorze 5 publikacji. Niemniej jednak rozdział ten stanowi dobre wprowadzenie do rozdziału „Dyskusja i podsumowanie wyników”, w którym rezultaty badań zostały bardzo dobrze uzasadnione i porównane z danymi z literatury. Opis wyników podkreśla spójność poszczególnych publikacji wchodzących w skład rozprawy. Pierwsza oryginalna praca dotyczy różnicowania genetycznego bakterii, druga analizy różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej grzybów, a trzecia bakterii w zależności od typu gleb. Doskonałą podbudową dla oryginalnych prac twórczych były dwie publikacje przeglądowe. W pierwszej Doktorant przedstawił przegląd literatury na temat różnorodności funkcjonalnej w środowisku glebowym, a w drugiej skupił się na nowoczesnych metodach molekularnych, takich jak sekwencjonowanie następnej generacji (NGS) oraz technika elektroforezy w gradiencie środka denaturującego (DGGE).

Kolejny rozdział rozprawy stanowią „Wnioski”, w którym Doktorant sformułował 6 trafnych wniosków odpowiadających na cel badań. Na końcu pracy znajduje się starannie przygotowany spis literatury, obejmujący 88 pozycji naukowych. Ostatni rozdział rozprawy stanowią kopie opublikowanych prac wchodzących w skład zbioru publikacji oraz oświadczenia promotora i autora rozprawy doktorskiej, zgodnie z wymogami zawartymi w załączniku do uchwały nr 86/2019 Rady Naukowej IUNG-PIB z dnia 18 września 2019 r. w sprawie „Regulaminu przygotowania rozpraw doktorskich w formie zbioru artykułów”. Dołączone są także oświadczenia potwierdzające procentowy udział i indywidualny wkład współautorów w powstanie publikacji.

Konkludując ocenę merytoryczną rozprawy doktorskiej stwierdzam, że publikacje składające się na rozprawę doktorską powstały na podbudowie dobrej koncepcji badań. Zostały starannie opracowane i dostosowane do wymagań czasopism. Wszystkie badania zostały wykonane poprawnie pod względem metodycznym. Trafne rozwiązania metodyczne czynią uzyskane rezultaty cennymi. Wyniki badań są oryginalne. Zostały one poprawnie opracowane statystycznie i dobrze zilustrowane. Wnoszą nowe wartości do mikrobiologii gleby. Doktorant udowodnił, że posiada ogólną wiedzę teoretyczną do właściwej oceny otrzymanych wyników badań. Posiadał też umiejętność syntetycznego opisu problematyki badawczej zaprezentowanej w zbiorze publikacji, którą zatytułował „Różnorodność strukturalna i funkcjonalna mikroorganizmów w wybranych typach gleb charakterystycznych dla Polski”.

4.1. Najważniejsze osiągnięcia

Dobrze zaprojektowane doświadczenia, oryginalna koncepcja oraz szeroki wachlarz precyzyjnych metod badawczych i odpowiednie przygotowanie Doktoranta umożliwiło osiągnięcie wielu cennych i wartościowych wyników.

1. Ważnym elementem rozprawy doktorskiej jest wykazanie, że skład gatunkowy mikroorganizmów jest ściśle związany z właściwościami fizykochemicznymi badanych gleb.
2. Udowodnienie, że każdy typ gleby posiada unikatowy mikrobiom rdzeniowy oraz wskazanie rodzajów bakterii i grzybów tworzących mikrobiom wspólny dla wszystkich typów gleb.
3. Stwierdzenie, że w glebach o odczynie kwaśnym istnieje mniejsza różnorodność taksonomiczna i funkcjonalna mikroorganizmów niż w glebach o odczynie zbliżonym do obojętnego.
4. Wykazanie, że nowoczesne metody analityczne, w tym sekwencjonowanie następnej generacji i analiza bioinformatyczna stanowią dobre i czułe narzędzie do oceny jakości gleb.

Oceniając zbiór 5 opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych poprzedzonych ich łącznym opracowaniem, stwierdzam, że Pan mgr Jarosław Grządziel opanował metody prowadzenia badań naukowych oraz techniki analityczne. Posiadał umiejętność interpretacji i dyskusji wyników. Uzyskane wyniki i wyciągnięte na ich podstawie wnioski odpowiadają na cele częściowe 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. W pełni opanował umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska stanowi oryginalne osiągnięcie naukowe i wnosi do literatury przedmiotu wiele istotnych informacji poszerzających stan wiedzy na temat różnorodności strukturalnej i funkcjonalnej mikroorganizmów glebowych w wybranych typach gleb. Jest to szczególnie istotne, gdyż podjęte przez Doktoranta badania dostarczają wiele nowych i dotychczas nieznanych w literaturze informacji na temat mikrobiomu gleby. Rozprawa wnosi nową, bardzo wartościową wiedzę do mikrobiologii gleby w zakresie dyscypliny naukowej rolnictwo i ogrodnictwo.

5. 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 dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie i nauce (Dz. U. poz. 1668) oraz ustawę z dnia 2 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie i nauce (Dz. U. poz. 1669).

Pan mgr Jarosław Grzędziel w przedstawionej rozprawie udokumentował spełnienie wszystkich wymogów stawianych przez wymienione ustawy. W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie mgr. Jarosława Grzędziela do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę wartość poznawczą rozprawy doktorskiej, wykonanej nowoczesnymi technikami badawczymi, oraz aktualność problematyki badawczej, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Jarosława Grzędziela stosowną nagrodą.

Olsztyn, 17.01.2020 r.

prof. dr hab. Jadwiga Wyszowska