

Katowice, 20.08.2023 r.

Prof. dr hab. Zofia Piotrowska-Seget
Wydział Nauk Przyrodniczych
Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska
40-032 Katowice
ul. Jagiellońska 28

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Anny Bluszcz
pt: „Wpływ deszczowania oraz wieloletnich uproszczeń na wskaźniki mikrobiologiczne gleby pod
uprawą łubinu białego i soi”

Praca doktorska mgr Anny Bluszcz została wykonana w Katedrze Gleboznawstwa i Mikrobiologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu pod kierunkiem promotorki dr hab. Justyny Starzyk prof. UPP oraz promotorki pomocniczej dr hab. Agnieszki Faligowskiej prof. UPP

Badania realizowano w ramach grantu finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi „Zwiększenie wykorzystania krajowego białka paszowego dla produkcji wysokiej jakości produktów zwierzęcych w warunkach zrównoważonego rozwoju”.

Przedmiot rozprawy i ocena formalna pracy

Współczesne rolnictwo poszukuje nowych, innowacyjnych rozwiązań w produkcji rolnej, które zapewnią większe plony, ale będą też uwzględniać dbałość o stan gleb, a tak naprawdę, o optymalne warunki dla funkcjonowania zasiedlających je mikroorganizmów. Jakość gleby i jej zdolność do wyżywienia roślin zależy w ogromnej mierze od różnorodności i aktywności jej mikrobiomu. Jednym z zagadnień, które wymaga dokładnego poznania, i jest istotne przy wprowadzaniu alternatywnych strategii w rolnictwie, jest ocena wpływu sposobu uprawy roli i deszczowania na liczebność i aktywność mikroorganizmów. W nurt takich właśnie badań wpisuje się projekt doktorski Pani mgr Anny Bluszcz, którego wyniki mogą mieć potencjalny wpływ na wybór odpowiedniego sposobu uprawy i zabiegów agrotechnicznych. Podjęcie tej tematyki badawczej uważam za bardzo aktualne i zasadne.

Przedłożona do oceny rozprawa ma układ typowy dla doktorskich prac eksperymentalnych. Obejmuje 244 strony maszynopisu i zawiera wszystkie wymagane części rozprawy doktorskiej: Wstęp, Przegląd literatury, Hipotezy badawcze, Cel pracy, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski i Spis literatury. Pracę uzupełnia streszczenie w języku polskim i angielskim. Tytuły poszczególnych rozdziałów i podrozdziałów odzwierciedlają ich zawartość. Praca została przygotowana starannie pod względem edytorskim i napisana jest poprawnym językiem naukowym.

Pod względem formalnym praca doktorska Pani mgr Anny Bluszcz nie budzi żadnych zastrzeżeń.

Ocena merytoryczna

Rozprawę zaczyna jednostronicowy *Wstęp*, w którym Autorka przedstawia obecne trendy uprawy roli i celowość realizowanych przez siebie badań. Kolejna część to 27 stronicowy *Przegląd literatury* stanowiący logiczną i spójną całość, zawierający informacje niezbędne do interpretacji i dyskusji uzyskanych wyników. W uporządkowany i przejrzysty sposób mgr Anna Bluszcz wprowadza czytelnika w tematykę badań zaprezentowanych w rozprawie. Przegląd zaczyna od charakterystyki łubinu i soi, roślin spod których pobierane były próbki gleby, a następnie przedstawia problemy związane z częstym niedoborem wody w glebie i potrzebą deszczowania upraw. W kolejnych częściach pracy opisuje systemy uprawy roli oraz wpływ tych systemów i deszczowania na liczebność i aktywność wybranych grup bakterii i grzybów. Autorka słusznie podkreśla, że wyniki takich badań, publikowane przez różnych autorów różnią się, i to czasem bardzo znacznie. Ta sytuacja stwarza konieczność prowadzenia dalszych badań w tym zakresie. Przedstawione studium literaturowe jest dobrym wprowadzeniem do celu pracy, którym jest określenie wpływu deszczowania i wieloletnich uproszczeń w uprawie roli oraz poziomu głębokości gleby na liczebność mikroorganizmów i aktywność biochemiczną gleby pod uprawą łubinu białego i soi. W trakcie badań mgr A. Bluszcz weryfikowała następujące hipotezy badawcze: (1) uproszczenia uprawy roli oraz zabieg deszczowania korzystnie wpływają na liczebność populacji glebowych oraz ich aktywność enzymatyczną; (2) wskaźniki mikrobiologiczne gleby zależą od poziomu głębokości gleby oraz fazy rozwojowej rośliny.

Zaprezentowane badania Doktorantka prowadziła w latach 2016 – 2018 na glebie pobranej z poletek doświadczalnych w Zakładzie Doświadczalno–Dydaktycznym Uprawy Roli i Roślin Gorzyń (stacja Złotniki). W rozdziale *Materiał i metody* Autorka bardzo dokładnie opisała lokalizację poletek, schemat doświadczenia, warunki pogodowe, warunki glebowe i zastosowane zabiegi agrotechniczne oraz sposób, w jaki prowadziła oznaczenia mikrobiologicznych parametrów gleby. Na wspomnianych poletkach

proawodno uprawę tulinu białego (odmiana Butan) i soi (odmiana Merlin) w czterech powtórzeniach w dwóch blokach: niedeszczowanym i deszczowanym. W obrębie każdego bloku prowadzono konwencjonalny i uproszczony system uprawy roli oraz siew bezpośredni w ściernisko. Do analiz mikrobiologicznych próbki gleby pobierano z dwóch głębokości: 0 – 10 cm i 10 – 20 cm w trzech różnych terminach, pierwsze dwa zawiązane były z fazą wzrostu rośliny (faza dwóch liści i kwitnienia), ostatni pobór próbek odbywał się po zbiorze rośliny uprawnej. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że na wybranych poletkach, ten sam sposób uprawy i deszczowanie prowadzone są nieprzerwanie od kilkudziesięciu lat. Takie gleby dają unikatową szansę na ocenę długoterminowego wpływu przeprowadzanych zabiegów czy sposobu uprawy na mikroorganizmy glebowe.

W celu oceny liczebności bakterii oraz ich aktywności metabolicznej mgr Anna Bluszcz wykorzystała powszechnie stosowane w mikrobiologii gleby metody. Doktorantka oznaczała ogólną liczebność bakterii oraz liczebność wybranych grup bakterii tj: bakterii kopiotroficznych, proteolitycznych, celulolitycznych, promieniowców, bakterii z rodzaju *Azotobacter* i grzybów pleśniowych na odpowiednich podłożach. Podobnie, w oparciu o standardowe procedury oznaczała aktywność pięciu - bardzo ważnych z punktu widzenia jakości i funkcjonowania gleb – enzymów: dehydrogenazy, ureazy, proteazy, katalazy oraz fosfatazy kwaśnej i zasadowej. Ponadto, Doktorantka wykorzystując metodę BIOLOG[®] i płytki EcoPlates™ oznaczała profile fizjologicznego zróżnicowania zespołów bakterii (CLPP, Community-Level Physiological Profiles) zasiedlających badane gleby. Na podstawie pomiarów spektrofotometrycznych obrazujących stopień zużycia indywidualnych substratów obecnych w płytkach Eco obliczyła indeksy bioróżnorodności Shannona-Wienera (H'), indeks bogactwa (R_s) oraz indeks równości (Eh). Wszystkie analizy przeprowadzono w odpowiedniej liczbie powtórzeń biologicznych.

Muszę się przyznać, że odczuwam pewien niedosyt zastosowanych metod. W moim odczuciu, zabrakło metody umożliwiającej poznanie zmian również w taksonomicznej strukturze badanych mikrobiomów w oparciu o biochemiczne lub molekularne markery izolowane bezpośrednio z gleby. Szanuję jednak prawo badacza do wyboru metod oraz zakresu badań i stwierdzam, że metody zastosowane przez Doktorantkę pozwoliły na uzyskanie bardzo wartościowych wyników.

Szeroko zakrojone badania zaowocowały ogromną ilością wyników, które Pani mgr Anna Bluszcz zaprezentowała na 129 stronach pracy, zestawiając je w postaci 126 wykresów, 8 rycin i 5 tabeli. Wyniki zaprezentowane są w sposób czytelny i przejrzysty, a co ważne, poddano je prawidłowej analizie statystycznej. Muszę przyznać, że jestem pod wrażeniem ilości uzyskanych danych i pracy, którą Pani Anna włożyła w przeprowadzenie zaplanowanych analiz. Obok zaprezentowania wyników ze wszystkich analiz

mikrobiologicznych przeprowadzonych w roku 2016, 2017 i 2018, Autorka przedstawiła sumaryczne uśrednione wyniki liczebności mikroorganizmów i aktywności gleby z lat 2016-2018 w zależności od sposobu uprawy roli, deszczowania i głębokości, z której pobierano próbki. Muszę przyznać, że wykresy te bardzo ułatwiają obserwację zmian w wartościach oznaczanych parametrach mikrobiologicznych i ułatwiają interpretację wyników.

Pani mgr Anna Bluszcz uzyskała wiele ciekawych wyników, które poszerzają i uzupełniają naszą wiedzę dotyczącą reakcji mikroorganizmów na stosowane przez wiele lat alternatywne sposoby uprawy gleby i deszczowanie. Badania wykazały, że sposób uprawy roli, deszczowanie, głębokość z której pobierano próbki oraz roślina miały istotny i bardzo zróżnicowany wpływ na oznaczane parametry gleby. Wyniki wskazują, że uproszczony sposób uprawy faworyzuje mikroorganizmy. W glebach uprawianych tym systemem liczebność prawie wszystkich badanych grup bakterii i grzybów pleśniowych, aktywność enzymów (z wyjątkiem fosfatazy kwaśnej i ureazy pod soją) oraz potencjał metaboliczny były wyższe niż w glebach uprawianych systemem konwencjonalnym i siewem bezpośrednim. Deszczowanie w większości przeprowadzonych analiz stymulowało mikroorganizmy do wzrostu. Stymulacja ta wyrażała się wyższą liczebnością mikroorganizmów i aktywnością enzymów. Jednak nie obserwowano tego efektu np. w przypadku ogólnej liczebności bakterii i promieniowców, w glebie i pod łubinem we wszystkich systemach uprawy. Deszczowanie też nie zwiększało aktywności metabolicznej całego zespołu (wyrażonej jako ΣAUC) w żadnej z badanych gleb. Z kolei, 3-czynnikowa analiza wariancji aktywności metabolicznej wskazała system uprawy jako decydujący czynnik różnicujący aktywność kataboliczną w glebie pobranej spod łubinu. Przedstawione wyniki pokazują również istotny wpływ roślin i ich faz rozwojowych na mikrobiologiczne wskaźniki gleby. Mapy ciepła (hetmaps) i analiza skupień pozwoliły Doktorantce na opisanie pewnych zależności pomiędzy sposobem uprawy, deszczowaniem, a liczebnością i aktywnością mikroorganizmów. Obserwowane fluktuacje w liczebności poszczególnych grup mikroorganizmów oraz ich potencjale metabolicznym, mierzonym aktywnością enzymów i stopniem zużycia substratów w płytkach Eco pokazują, jak złożone jest środowisko glebowe i jak złożone są interakcje pomiędzy biotycznymi i abiotycznymi elementami gleby.

W kolejnym rozdziale, *Dyskusji*, Doktorantka skomentowała uzyskane wyniki zgodnie z celami pracy i przeprowadzonymi eksperymentami. Dyskusja napisana jest bardzo dobrze i z przyjemnością ją czytałam. W sześciu podrozdziałach Doktorantka omawia wyniki odnosząc je do wyników - często całkowicie odmiennych - opublikowanych przez innych autorów. Autorka bardzo logicznie i przekonująco wyjaśnia uzyskane przez siebie wyniki. Rozdział ten pokazuje, że mgr Anna Bluszcz dobrze

i swobodnie porusza się w literaturze dotyczącej wpływu sposobu uprawy roli i zabiegów agrotechnicznych na kondycję mikroorganizmów glebowych.

Wnioski są podsumowaniem uzyskanych wyników i są generalnie poprawnie sformułowane. Zdaje sobie sprawę, że przy tak ogromnie rozbudowanym układzie badawczym i tylu zmiennych wyciągnięcie wniosków jest trudne. Stąd też, nie wszystkie wnioski są do końca prawdziwe. Autorka pisze (wniosek 2), że zabieg deszczowania był zabiegiem stymulującym rozwój populacji drobnoustrojów - tak rzeczywiście było dla większości badanych grup mikroorganizmów, ale w przypadku ogólnej liczebności bakterii i bakterii kopiotroficznych pod łubinem ich liczba w glebie niedeszczowanej w uprawie uproszczonej i siewie była istotnie mniejsza niż w glebie deszczowanej. Zresztą o różnicach w reakcji poszczególnych grup bakterii na deszczowanie pisze Autorka w rozdziałach *Wyniki* i *Dyskusja*. Bezpieczniej, ale i poprawniejszym byłoby sformułowanie: deszczowanie stymuluje rozwój większość badanych grup bakterii.

Spis piśmiennictwa obejmuje aż 364 pozycje, w tym wiele angielskojęzycznych. Do opracowania rozprawy Doktorantka wykorzystała również 7 strony internetowe. Literatura jest dobrana zgodnie z tematyką badawczą, została umiejętnie wykorzystana i poprawnie cytowana w tekście pracy. Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na niedociągnięcie w edycji tego rozdziału. Tytuły jednych czasopism pisane są skrótami, inne pełną ich nazwą.

Inne uwagi:

W pracy zdarzają niefortunne sformułowania. Przykładowo, „...stan mikrobiologiczny względem różnych gatunków roślin i ich faz rozwojowych” (str. 34) – lepiej by brzmiało: ...ocena mikrobiologicznych parametrów gleby pobranej spod roślin w różnych fazach rozwojowych;

Podpisy niektórych rycin są nieprecyzyjne. Przykładowo Ryc. 5 jest opisana jako „Analiza składowych głównych dla łubinu ...”, jest to skrót myślowy. Zaprezentowane wyniki dotyczą korelacji pomiędzy badanymi parametrami w glebie, w której uprawiano łubin, a nie dla łubinu.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że dysertacja doktorska pt: „Wpływ deszczowania oraz wieloletnich uproszczeń na wskaźniki mikrobiologiczne gleby pod uprawą łubinu białego i soi”, wykonana przez Panią mgr Annę Bluszcz, stanowi wartościowe oryginalne opracowanie naukowe i w pełni spełnia warunki określone w art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku - przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.).

Doktorantka wykazała, że sprawnie posługuje się warsztatem mikrobiologa, potrafi planować doświadczenia, posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy badawczej, interpretacji i dyskusowania wyników. Posiada też wiedzę z zakresu mikrobiologii gleby i agronomii. W związku z powyższym przedkładam Radzie Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo na Wydziale Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytetu Rolniczego w Poznaniu wniosek o dopuszczenie mgr Anny Bluszcz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

2 pfeget