

Puławy, dn. 25.09.2024 r.

**dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB**

**Zakład Mikrobiologii**

## **RECENZJA**

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Damiana Nikodema**

**pt. „Wpływ wybranych metali ciężkich na interakcje łubinu wąskolistnego z jego mikrosymbiontami z rodzaju *Bradyrhizobium*”**

Przedłożona do oceny praca doktorska mgr inż. Damiana Nikodema została wykonana w Katedrze Biochemii i Biotechnologii, Wydziału Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu pod kierunkiem dr hab. Doroty Narożnej, prof. UPP. Recenzję rozprawy przygotowano na prośbę prof. dr hab. Andrzeja Blecharczyka, Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo, po wcześniejszym wyborze w dniu 16 lipca 2024 r.

### **1. Uwagi ogólne i znaczenie podjętej tematyki badań**

Problematyka omawianej rozprawy doktorskiej dotyczy aktualnej tematyki oceny wpływu metali ciężkich na interakcje roślin bobowatych z ich mikrosymbiontami.

Wzrost i rozwój roślin w środowisku naturalnym jest uwarunkowany przez czynniki biotyczne i abiotyczne. Wśród czynników biotycznych najważniejszą rolę pełnią mikroorganizmy. Mikroorganizmy glebowe wykazujące dużą aktywność fizjologiczną głównie zasiedlają strefę w pobliżu korzeni roślin tworząc specyficzną niszę. Korzenie roślin wydzielają wiele związków organicznych, które stymulują rozwój bakterii, co ma istotny wpływ na skład mikrobiomu ryzosfery. Istotną rolę w zwiększeniu efektywności produkcji roślinnej jak i możliwości zasiedlania i przetrwania roślin w środowiskach naturalnych odgrywają mikroorganizmy, które wchodzi w różnego rodzaju symbiotyczne interakcje z roślinami. Wielu autorów badało wpływ interakcji między roślinami a mikroorganizmami, w oparciu o hipotezę, że wydzieliny korzeniowe zwiększają populację mikroorganizmów w ryzosferze. W przypadku stresu chemicznego w glebie roślina może reagować

zwiększeniem lub zmianą ilości tych wydzielin, co z kolei modyfikuje skład mikrobiomu lub aktywność mikroorganizmów.

Udział bakterii w kształtowaniu żyzności i zdrowotności gleby jest powszechnie znany, ponieważ to właśnie mikroorganizmy glebowe odgrywają główną rolę w mineralizacji materii organicznej, udostępnianiu roślinom składników pokarmowych, powstawaniu humusu glebowego, ograniczaniu patogenów i wielu innych. Ponadto niniejsza praca doktorska wpisuje się także w tzw. Europejską Strategię Bioróżnorodności. W powyższym kontekście problematyka ocenianej pracy doktorskiej **ma znaczenie uylitarne i praktyczne** ze względu na możliwości wdrażania osiągniętych wyników badań do praktyki. Recenzowana rozprawa doktorska opiera się zarówno na laboratoryjnych metodach podstawowych jak i metodykach doświadczalnych z udziałem roślin. Warte podkreślenia jest również to, że w recenzowanej dysertacji jasno przedstawiono wyniki badań będące efektem rzetelnego poprowadzenia badań.

Przedstawiona powyżej problematyka pracy dotyczy istotnych i aktualnych zagadnień związanych z ochroną środowiska glebowego, a w oparciu o uzyskane rezultaty pozytywnie oceniam istotność, trafność i aktualność podjętej tematyki badawczej.

## **2. Ocena formalna i merytoryczna rozprawy doktorskiej**

Opiniowana rozprawa doktorska ma postać monotematycznej dysertacji liczącej 150 strony, na których znajduje się: 10 tabel, 48 figur oraz 130 pozycji literaturowych (zarówno literatury polskojęzycznej jak i anglojęzycznej). Dysertacja składa się z klasycznych rozdziałów zgodnych ze schematem prac badawczych i nie budzących zastrzeżeń. Rozprawa zbudowana jest z 8 rozdziałów zasadniczych, do których zaliczam: „Wstęp”, czyli trzydziestotrzystronicowy przegląd literatury przedstawiony w jedenastu podrozdziałach. Kolejnym rozdziałem jest dwustronicowy rozdział „Hipoteza i cel pracy”, następnie „Materiały i metody”, „Wyniki i dyskusja”, „Podsumowanie i wnioski”, „Literatura” oraz „Spis rycin” i „Spis tabel”. Na wstępie dysertacji Doktorant dołączył również wykaz skrótów stosowanych w pracy oraz streszczenie pracy w języku polskim oraz streszczenie pracy w języku angielskim. Treść całej pracy doktorskiej została dodatkowo podzielna na liczne podrozdziały wyodrębnione w „Spisie treści”, co nadaje pracy dużą przejrzystość i czytelność.

W rozdziale „Wstęp” zostały jasno i syntetycznie przedstawione najważniejsze i aktualne informacje na temat roli i znaczenia wybranych pierwiastków śladowych w glebie, w tym znaczenia biologicznego miedzi, niklu, manganu, kadmu. Doktorant przedstawił także szczegółową charakterystykę łubinu wąskolistnego i jego symbiontów z rodzaju *Bradyrhizobium*. We wstępie przedstawiony został także opis podstawowych mechanizmów adaptacyjnych zarówno roślin jak i rizobiów na stres abiotyczny, jak również wpływ wybranych metali ciężkich na rośliny oraz symbiotyczne bakterie glebowe. Doktorant zaakcentował także problem biotechnologicznego zastosowania rizobiów w ochronie środowiska i bioremediacji.

Kolejny rozdział dysertacji to „Hipoteza i cel pracy”, w którym Doktorant przedstawia jasno i słusznie postawioną hipotezę badawczą. W celu jej weryfikacji stawia cztery poprawnie sformułowane cele badawcze, które konsekwentnie realizuje w toku prowadzonych badań. W mojej opinii cele badań oraz hipoteza badawcza, jak również cztery wymienione cele szczegółowe zostały poprawnie zaplanowane a w toku realizacji badań Doktorant uzyskał wyniki dające na nie odpowiedź. Weryfikację hipotezy badawczej oparto na powiązanych logicznie zaplanowanych, kolejnych etapach badań, adekwatnych do przyjętego celu rozprawy doktorskiej.

W szesnastostronicowym rozdziale „Materiały i metody” Doktorant bardzo szczegółowo przedstawia i opisuje zarówno „Materiały” jak i „Metody”, które wybrał do badań. Należy podkreślić, że w opisie zarówno materiałów jak i metod Doktorant szczegółowo opisuje wszystkie metodyki, co pozwala na dosłowne odwzorowanie wszystkich prowadzonych przez Niego badań, przy zastosowaniu takich samych odczynników oraz metodyk. Jest to bardzo cenne w pracach badawczych. W części dotyczącej metodyk na uwagę i pochwałę zasługuje szeroki dobór stosowanych oznaczeń. Doktorant pokusił się o szeroką i wielowątkową analizę wpływu badanych pierwiastków śladowych na wzrost roślin oraz aktywność mikrobiologiczną. Określił także tolerancję badanych szczepów wobec wybranych pierwiastków śladowych a także ocenę zdolności bakterii do syntetyzowania kwasu indolilo-3-octowego, sideroforów oraz zewnątrzkomórkowych polisacharydów. Cenne badania podjęte przez Doktoranta dotyczą także wpływu wybranych metali ciężkich na plon roślin, ich kiełkowanie i rozwój systemu

korzeniowego. Za bardzo ważne uważam także analizy wpływu jonów miedzi, niklu, manganu i kadmu na morfologię komórek szczepów bakteryjnych, w tym szczegółową analizę morfologiczną komórek *Bradyrhizobium* przy użyciu mikroskopii skaningowej. Wśród zastosowanych metod można wymienić także wpływ badanych pierwiastków śladowych na aktywność transkrypcyjną genów bakteryjnych m.in.: genu kodującego syntazę trehalozy, genu kodującego receptor sideroforów, genu kodującego białko regulatorowe egzopolisacharydów, genu kodującego ATPazę typu P transportującą metale ciężkie czy genu kodującego czynnik nodulacji. Doktorant wykonał także analizy z udziałem roślin inokulowanych badanymi bakteriami, co znacząco wzbogaciło całą pracę i potwierdziło praktyczny aspekt prowadzonych badań. Wszystkie otrzymane wyniki badań zostały także poprawnie przedstawione graficznie. Niemniej jednak w całej dysertacji zabrakło opisu metod statystycznych oraz statystycznego opracowania otrzymanych wyników.

Proszę o odpowiedź jakie według Pana najważniejsze cechy powinien posiadać szczep w kontekście potencjalnego wykorzystania go w przypadku zanieczyszczeń gleb? Czy według Pana wiedzy szczepy z rodzaju *Bradyrhizobium* są dostępne na rynku jako komponenty biopreparatów w kontekście zanieczyszczenia gleb pierwiastkami śladowymi? Na ile przedstawione w dysertacji wyniki badań mogą stanowić innowacyjne i praktyczne podejście w fitoremediacji, czy fitoakumulacji tych metali ciężkich?

Najobszerniejsza część dysertacji stanowi rozdział „Wyniki i dyskusja”, w którym Doktorant szczegółowo omawia otrzymane dane zestawiając je w formie licznych figur i tabel. Forma prezentacji wyników oraz ich opis nie budzi zastrzeżeń. W jasny i logiczny sposób pozwala czytelnikowi na ich interpretację. W rozdziale „Wyniki i dyskusja ” Doktorant opisuje w sposób syntetyczny rezultaty badań, które zostały bardzo dobrze uzasadnione i porównane z danymi z literatury. Opis wyników podkreśla spójność całej dysertacji. W tym rozdziale zdecydowanie zabrakło mi analizy statystycznej.

W tej części recenzji chciałabym przedstawić kilka uwag a jednocześnie pytań do Doktoranta:

- jak przedstawił by Pan obecny stan zanieczyszczenie gleb w Polsce pierwiastkami śladowymi? We wstępie podaje Pan dane z 2017 roku, a jak wygląda to aktualnie?

- jaki widzi Pan praktyczny aspekt swoich badań? Czy istnieje możliwość dalszych prac nad tym tematem i wdrożenia wyników badań do praktyki?

- czy w dalszym etapie kontynuowania tych badań planowałby Pan także badania w warunkach zbliżonych do naturalnych (gleby zanieczyszczone pierwiastkami śladowymi)?

W tekście pracy znalazła także kilka drobnych uwag tj:

- np. opis ryc. 14 „Wszystkie” bakterie, zalecałabym jednak opis „analiza poszczególnych grup bakterii”, lub „analiza mikrobiologiczna badanych gleb”.

- Proteobakterie lub jeśli z łac. Proteobacteria; mikoryza – mykoryza

- m.in.: rys. 9B, opis powinien dotyczyć niklu.

Kolejny rozdział rozprawy stanowi „Podsumowanie i wnioski”, w którym Doktorant sformułował jedenaście punktów/stwierdzeń odpowiadających na cel badań. Niemniej jednak w mojej opinii wszystkie wnioski powinny stanowić bardziej „oznajmiający charakter”, spośród nich zaledwie kilka można uznać za wnioski.

Na końcu pracy znajduje się spis literatury obejmujący najważniejsze i trafnie dobrane pozycje literaturowe z zakresu przedmiotu badań. Na pochwałę zasługuj dobrze dobrana literatura dotyczące prezentowanej tematyki. Doktorant zacytował w dysertacji 130 pozycji literaturowych.

Podsumowując układ omawianej pracy jest poprawny, czytelny i niebudzący większych zastrzeżeń. Ponadto poszczególne rozdziały i podrozdziały są ze sobą logicznie powiązane, stanowią całość, co ułatwia śledzenie i merytoryczną ocenę uzyskanych wyników. Recenzowana rozprawa doktorska jest napisana językiem poprawnym stylistycznie, pozwalającym w łatwy sposób na dokładne śledzenie toku prowadzonych badań i rozwiązań naukowych.

Konkludując ocenę merytoryczną rozprawy doktorskiej stwierdzam, że całość dysertacji powstała na podbudowie dobrej koncepcji badań. Wszystkie badania zostały wykonane

poprawnie pod względem metodycznym. Wyniki badań są oryginalne. Zostały one dobrze zilustrowane. Wnoszą nowe wartości do dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych oraz nauk biologicznych i mikrobiologicznych. Doktorant udowodnił, że posiada szeroką wiedzę teoretyczną do właściwej oceny otrzymanych wyników badań. Pan mgr inż. Damian Nikodem udowodnił także, że posiada umiejętność syntetycznego opisywania problematyki badawczej zaprezentowanej w dysertacji, którą zatytułował „*Wpływ wybranych metali ciężkich na interakcje łubinu wąskolistnego z jego mikrosymbiontami z rodzaju Bradyrhizobium*”.

### 3. Wniosek końcowy

Podsumowując recenzowana rozprawa doktorska stanowi ciekawe rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną mgr inż. Damiana Nikodema. Doktorant dowiódł, iż posiada wiedzę w powyższej tematyce, jak również potrafi przeprowadzić badania metodyczne związane z powyższą tematyką. Moim zdaniem sformułowany problem badawczy został osiągnięty a zaplanowany zakres badań zrealizowany. Wykorzystany przez Doktoranta warsztat naukowo-badawczy jest wystarczający, a uzyskane wyniki umożliwiły osiągnięcie zakładanych na wstępie założeń pracy. Dysertacja nie budzi większych zastrzeżeń pod względem formalnym i merytorycznym.

W świetle powyższej recenzji stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z obowiązującą podstawą prawną. Wnoszę więc do Rady Naukowej Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie Pana mgr inż. Damiana Nikodema do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

  
dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB