

Lublin, 07.10.2021

prof. dr hab. Magdalena Frąc
Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego
Polskiej Akademii Nauk
Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina
Laboratorium Mikrobiologii Molekularnej i Środowiskowej
ul. Doświadczalna 4
20-290 Lublin

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Zyty Waraczewskiej
pt. „Wpływ koinokulacji na aktywność mikrobiologiczną gleby, proces diazotrofii i
plonowanie łubinu białego (*Lupinus albus L.*)”

Rozprawa doktorska mgr inż. Zyty Waraczewskiej została wykonana w Katedrze Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej w Poznaniu pod opieką promotora prof. UPP dr hab. Alicji Niewiadomskiej oraz promotora pomocniczego dr inż. Karoliny Ratajczak. Recenzja została wykonana na zlecenie Dziekana Wydziału Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu prof. dr hab. Anny Kryszak.

1. Formalna ocena rozprawy – struktura dysertacji

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Zyty Waraczewskiej liczy 197 stron, w tym 29 rycin, 31 tabel oraz aż 412 pozycji literaturowych. Układ rozprawy jest prawidłowy dla doktorskich prac eksperymentalnych, a tytuł jest dobrze sprecyzowany i odpowiada jej treści. Dysertacja obejmuje wprowadzenie do zagadnień poruszanych w rozprawie oraz szereg wyników badań, które pokazują reakcję mikroorganizmów glebowych i odpowiedź roślin na inokulację i koinokulację nasion łubinu białego, z wykorzystaniem szeregu metod, co przyczynia się do pogłębienia wiedzy i dostarczenia narzędzi, które mogą znaleźć potencjalne zastosowanie w integrowanym i ekologicznym systemie produkcji roślinnej.

Rozprawa złożona jest z dwunastu rozdziałów zawierających liczne podrozdziały, które zostały ujęte w spisie treści, rozpoczynającym dysertację, a struktura pracy obejmuje: Wstęp, Przegląd literatury, Problemy badawcze, Hipotezy badawcze, Cel pracy, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusję, Wnioski, Bibliografię oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. **Wstęp** obejmujący krótkie uzasadnienie podjętych badań został przedstawiony na jednej stronie pracy. **Przegląd literatury, liczący 26 stron**, podzielony jest na trzy główne

rozdziały, które zawierają kolejne szczegółowe podrozdziały. Ta część pracy wprowadza do tematyki rozprawy doktorskiej, skupiając się zarówno na znaczeniu roślin bobowatych, jak również na procesie biologicznego wiązania azotu oraz mikroorganizmach istotnych dla wzrostu i rozwoju roślin, podkreślając zarówno nowe osiągnięcia w obrębie omawianych zagadnień, jak i podstawy podejmowanego problemu. Kolejny rozdział obejmuje **Problemy badawcze**, w którym Doktorantka sformułowała pięć trafnych pytań, na które poszukiwała odpowiedzi w obszarze podjętych badań. Natomiast następny rozdział to **Hipotezy badawcze**, w którym Doktorantka prawidłowo sformułowała weryfikowane hipotezy badawcze, dotyczące znaczenia koinokulacji w uprawie roślin bobowatych i jej wpływu na proces diazotrofii, aktywność mikrobiologiczną gleby oraz kondycję roślin. W dalszej części rozprawy został przedstawiony **Cel pracy** badawczej. Część metodyczna – **Materiały i metody** obejmuje 27 stron i została podzielona na kilka podrozdziałów i podpunktów, zawierających opis przeprowadzonych doświadczeń laboratoryjnych i polowych wraz z omówieniem zastosowanych metod mikrobiologicznych. W końcowej części rozdziału zamieszczono opis zastosowanych analiz statystycznych, co jest ważne dla wsparcia uzyskanych wyników i wyciągnięcia prawidłowych wniosków. Najbardziej obszerną część rozprawy doktorskiej stanowi rozdział **Wyniki**, który został przedstawiony na 73 stronach i składa się z 2 głównych rozdziałów, obejmujących wyniki doświadczeń laboratoryjnych i polowych, które zostały podzielone na szczegółowe podrozdziały. Wyniki zaprezentowane w tej części pracy zostały przedstawione w kolejności korespondującej w większości z rozdziałami lub podrozdziałami części metodycznej, co ułatwia śledzenie i analizę przedstawionych rezultatów. Dyskusja została przedstawiona na **22 stronach** i odnosi się do głównych tendencji oraz najważniejszych wyników uzyskanych w trakcie prowadzonych badań, a także zawiera podsumowanie uzyskanych rezultatów. W rozdziale **Wnioski** Doktorantka sformułowała 6 trafnych wniosków wynikających z przeprowadzonych badań. **Bibliografia** liczy 412 pozycji literaturowych, w tym głównie publikacji anglojęzycznych, przy czym literaturę, na której opierała się Doktorantka, stanowią w około 40% publikacje z ostatnich 10 lat, pozostałe to w większości artykuły naukowe z ostatnich 20 lat, natomiast poniżej 16% (65 pozycji) całego spisu bibliografii stanowią prace sprzed roku 2000. Oznacza to, że podjęta tematyka badawcza, pomimo tego, że rozwijana od wielu lat, to wciąż jest aktualna, a ponadto wpisuje się w trendy zmierzające do biologizacji rolnictwa, wymienione w założeniach najnowszych dokumentów strategicznych Unii Europejskiej. Przedstawiona bibliografia, cytowana w rozprawie doktorskiej, potwierdza również, że Doktorantka

przeprowadziła gruntowny przegląd literatury, obejmujący kluczowe aspekty badań poruszanych w dysertacji. Następnie Autorka zamieściła streszczenia rozprawy doktorskiej w języku polskim i angielskim, które są spójne i zawierają krótki opis podjętego tematu badawczego, cel badań oraz syntetyczne podsumowanie uzyskanych rezultatów. **Pozytywnie oceniam przygotowanie rozprawy doktorskiej pod względem formalnym.**

2. Ocena wyboru tematyki badawczej rozprawy

Recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Zyty Waraczewskiej obejmuje badania dotyczące aktywności mikrobiologicznej gleby, procesu diazotrofii i plonowania łubinu białego, w wyniku koinokulacji nasion bakteriami z rodzaju *Bradyrhizobium*, *Bacillus subtilis* i *Pseudomonas fluorescens*, zastosowanymi w różnych konfiguracjach.

Badania dotyczyły obszaru tematycznego obejmującego wzajemne interakcje pomiędzy bakteriami symbiotycznymi z rodzaju *Bradyrhizobium* oraz endofitycznymi *B. subtilis* i *P. fluorescens*, ich wpływ na parametry biometryczne roślin oraz stopień kolonizacji korzeni przez endofity, a także aktywność mikroorganizmów glebowych i proces biologicznego wiązania azotu. Celem przeprowadzonych badań było wykazanie wpływu koinokulacji, czyli jednoczesnego szczepienia nasion łubinu białego bakteriami z rodzaju *Bradyrhizobium* oraz endofitami (*B. subtilis*, *P. fluorescens*) na aktywność mikrobiologiczną gleby, w szczególności liczebność wybranych grup mikroorganizmów i aktywność enzymatyczną z uwzględnieniem wskaźnika żyzności gleby, proces diazotrofii, stan fizjologiczny roślin oraz wielkość plonu.

Tematyka badawcza, obejmująca rośliny bobowate, podejmuje bardzo ważne zagadnienia wychodzące naprzeciw problemom dotyczącym zrównoważonego gospodarowania gruntami, a także jest istotna z punktu widzenia produkcji żywności, gdzie rośliny strączkowe nabierają coraz większego znaczenia. Biorąc pod uwagę wyzwania współczesnego rolnictwa, poszukiwanie sposobów wspomagających rozwój i plonowanie roślin bobowatych, zwłaszcza obejmujących technologie mikrobiologiczne, jest spójne z założeniami Europejskiego Zielonego Ładu i Strategii na rzecz Bioróżnorodności do 2030, które to dokumenty podkreślają znaczenie zrównoważonej produkcji roślinnej, konieczność rozwoju biologizacji rolnictwa i rozwiązań agroekologicznych oraz zakładają zwiększenie powierzchni roślin uprawianych w systemach ekologicznej produkcji. Dlatego też, można powiedzieć, że badania podjęte przez Doktorantkę wychodzą naprzeciw realnym potrzebom sektora rolniczego. Stąd

recenzowana rozprawa doktorska przedstawia aktualną i ciekawą tematykę badawczą, zarówno z punktu widzenia utylitarne, jak i poznawczego.

Wybór roślin bobowatych jest bardzo mocno uzasadniony, zarówno ze względu na to, że stanowią one bardzo dobry przedplon dla wielu roślin uprawnych, charakteryzując się dodatnim bilansem reprodukcji materii organicznej, poprawiają właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne gleby, jak również biorąc pod uwagę fakt, że są cennym źródłem białka i energii. Ponadto rośliny bobowate należą do roślin obficie produkujących nektar, co sprawia, że są ważnym źródłem pożywienia dla pszczoł hodowlanych i przyczyniają się do zwiększenia populacji dzikich zapylaczy. Jednakże, biorąc pod uwagę aspekty ochrony środowiska, największą zaletą roślin bobowatych jest symbioza z bakteriami, które wiążą azot atmosferyczny, co może stanowić alternatywę dla stosowania nawozów azotowych lub prowadzić do znacznego ograniczenia ich stosowania. Jednym z największych problemów i ograniczeń wykorzystania roślin bobowatych w płodozmianie jest ich niska produktywność, spowodowana głównie wrażliwością na zmiany pogodowe. Dlatego też poszukiwanie sposobów i narzędzi, które poprawiłyby plonowanie roślin bobowatych jest jednym z głównych wyzwań w produkcji tych roślin. Jedną ze strategii, które mogą mieć wpływ na plonowanie roślin i jakość gleb, jest wprowadzanie do produkcji rolniczej technologii opartych o wykorzystanie żywych mikroorganizmów. Do tych metod należy również wprowadzenie do uprawy roślin mikrobiologicznej inokulacji i koinokulacji nasion w celu ochrony i biostymulacji roślin. Przedstawiciele mikroorganizmów z rodzaju *Bacillus* i *Pseudomonas* należą do bakterii promujących wzrost roślin, a wykorzystując różne mechanizmy mogą indukować odporność roślin na biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe, prowadząc do szybszego wzrostu roślin i ich lepszego plonowania. **Dlatego też, przedstawione w rozprawie doktorskiej prace badawcze nad interakcjami pomiędzy szczepami z rodzaju *Bradyrhizobium* a bakteriami endofitycznymi *B. subtilis* i *P. fluorescens*, oraz określeniem wpływu koinokulacji nasion łubinu tymi mikroorganizmami na plonowanie roślin, biologiczne wiązanie azotu i aktywność mikrobiologiczną gleby, stanowią temat aktualny, wymagający badań, w którym pozostaje wiele niewyjaśnionych i nierozwiązanych problemów, zwłaszcza w kontekście wzajemnego oddziaływania mikroorganizmów, ich interakcji i możliwości praktycznego zastosowania w zrównoważonym rolnictwie.** Praca poszerza wiedzę na temat przydatności koinokulacji nasion łubinu białego w strategiach produkcji roślinnej. Podkreślić też należy, że rozprawa również dotyczy aspektu obejmującego stymulację wzrostu roślin bobowatych oraz aspekty

ochrony gleb, głównie w kontekście bioróżnorodności mikroorganizmów, poprzez zastosowanie naturalnych technologii mikrobiologicznych, co związane jest z biologizacją rolnictwa, wpisując się w misję „Troska o gleby to troska o życie” w ramach Programu Horyzont Europa i dostarczając narzędzi koniecznych dla ochrony gleb.

Biorąc pod uwagę znaczenie badań w świetle aktualnych trendów zmierzających do wspierania agroekologii i rozwijania mikrobiologicznych technologii produkcji oraz potencjał procesu koinokulacji dla rolnictwa zrównoważonego uważam, że tematyka badawcza podjęta przez Doktorantkę, wpisująca się w dziedzinę nauk rolniczych, dyscyplinę rolnictwo i ogrodnictwo jest celowa, w pełni uzasadniona, ważna i aktualna.

3. Merytoryczna analiza rozprawy

Pierwszym rozdziałem rozprawy jest **Wstęp**, w którym Doktorantka nakreśliła znaczenie podjętej tematyki badań, odnosząc się do znaczenia mikroorganizmów w adaptacji roślin do zmian klimatu, podkreśliła, że mogą mieć one istotny wpływ na zwiększenie plonowania i stymulację procesu diazotrofii, a także odniosła się do roślin bobowatych, których znaczenie w płodozmianie wiąże się z wieloma korzyściami dla środowiska, czym uzasadniła problematykę podjętych badań.

Drugim rozdziałem rozprawy jest Przegląd literatury, który Doktorantka podzieliła na trzy główne podrozdziały: Znaczenie roślin bobowatych, Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego i Bakterie promujące wzrost roślin (PGPR). W pierwszym podrozdziale Doktorantka omówiła znaczenie rolnictwa zrównoważonego we współczesnym świecie, odnosząc się do głównych problemów obserwowanych na przestrzeni dziesięcioleci, spowodowanych intensywną uprawą, prowadzącą do naruszenia równowagi mikrobiologicznej, obniżeniem żyzności gleb i zawartości próchnicy. Następnie przedstawiła strukturę zasiewów roślin strączkowych w Polsce, podkreślając działania zmierzające do odbudowy areału roślin bobowatych, w tym m.in. systematyczny wzrost ich powierzchni obserwowany od 2010 roku, czyli po wprowadzeniu dopłat do tych upraw. Kolejny podrozdział odnosi się do wpływu roślin bobowatych na środowisko, w którym Doktorantka podjęła dyskusję na temat wielokierunkowego znaczenia tych roślin dla podniesienia jakości gleby oraz jej ochrony, a także podkreśliła przydatność roślin bobowatych w działaniach rekultywacyjnych oraz omówiła ich znaczenie w kontekście żywieniowym. W końcowej części podrozdziału odniosła się do wpływu roślin bobowatych na bioróżnorodność, w tym podkreśliła ich walory miododajne, zapewniające pożywkę dla owadów i populacji dzikich i

hodowlanych zapylaczy, a także odniosła się do symbiozy tych roślin z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny. Tym samym Doktorantka przeszła płynnie do kolejnego rozdziału głównego omawiając na początku znaczenie biologicznego wiązania azotu, scharakteryzowała wolnożyjące i symbiotyczne asymilatory azotu oraz enzymy uczestniczące w poszczególnych etapach procesu, a także w kolejnym podrozdziale omówiła interakcje zachodzące pomiędzy roślinami i mikroorganizmami w środowisku glebowym, oraz porównała wydajność wiązania azotu atmosferycznego w różnych ekosystemach. Doktorantka następnie przedstawiła przebieg symbiozy pomiędzy rośliną a bakteriami, podkreślając złożoność i wieloetapowość tego procesu oraz etapy tworzenia brodawek korzeniowych i ich rodzaje. Kolejny podrozdział został poświęcony omówieniu czynników wpływających na proces biologicznego wiązania azotu, z uwzględnieniem czynników abiotycznych (temperatura, pH, zawartość azotu i innych składników pokarmowych, zagęszczenie gleby), które mogą hamować proces diazotrofii, poprzez hamowanie rozwoju brodawek, opóźnienie procesu nodulacji, infekcji włośników czy zaburzenia różnicowania bakteroidów. W kolejnym podrozdziale omówiono czynniki biotyczne regulujące proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego, które cieszą się coraz większym zainteresowaniem. Doktorantka zwróciła uwagę na znaczenie autochtonicznych bakterii brodawkowych i populacji mikroorganizmów bytujących w ryzosferze roślin, a także podkreśliła, że obecność mikroorganizmów symbiotycznych i wydajność diazotrofii zależy od wydzielin korzeniowych i wzajemnych relacji pomiędzy różnymi grupami mikroorganizmów, odnosząc się do istotnej roli bakterii promujących wzrost roślin (PGPR). Doktorantka scharakteryzowała bakterie endofityczne, z uwzględnieniem kolonizacji korzeni roślin, a następnie odniosła się do PGPR, podkreślając ich znaczenie dla wzrostu roślin, ich rozwoju, produktywności i adaptacji do warunków siedliskowych. Następnie omówiła mechanizmy promowania wzrostu roślin przez mikroorganizmy, wyszczególniając bezpośrednie i pośrednie oddziaływania mikroorganizmów i roślin, które zostały szczegółowo omówione w kolejnych dwóch podrozdziałach.

Ta część rozprawy doktorskiej została przygotowana w sposób uporządkowany, stanowiąc jasny ciąg myślowy, w którym Doktorantka płynnie i swobodnie przechodziła do kolejnych omawianych zagadnień, jest to część interesująca i zajmująca. Dobrze omówiona problematyka podjętych badań została napisana w sposób klarowny i bardzo dobrze podsumowuje znaczenie podjętego problemu badawczego, podkreśla jego

znaczenie praktyczne i poznawcze oraz dobrze wprowadza w zagadnienia przedstawione w dysertacji.

Trzeci, czwarty i piąty rozdział, to części pracy, w których sformułowano odpowiednio problemy badawcze, hipotezy badawcze i cel pracy. Doktorantka w ramach zdefiniowanych problemów badawczych postawiła pytania odnoszące się do tego czy stosowane w koinokluacji endofity wchodzi w interakcje z bakteriami brodawkowymi i działają względem siebie synergistycznie, czy koinokulacja wpływa stymulująco na parametry fizjologiczne roślin, czy ma istotny wpływ na aktywność mikrobiologiczną gleby i pozytywnie wpływa na proces diazotrofii oraz plonowanie roślin. Postawione przez Doktorantkę hipotezy, które weryfikowała w ramach prowadzonych prac badawczych obejmowały założenie, że koinokulacja wspomaga proces wiązania azotu atmosferycznego i wpływa korzystnie na aktywność mikrobiologiczną gleby, a także wspomaga kondycję roślin, co może skutkować wyższym plonowaniem. Dlatego też celem przeprowadzonych badań było wykazanie wpływu koinokulacji na aktywność mikrobiologiczną gleby, proces diazotrofii, stan fizjologiczny roślin oraz wielkość plonu. **Sformułowane problemy i hipotezy badawcze oraz podjęty cel badań zostały sformułowane prawidłowo, wyznaczając kierunek prac badawczych, które w kolejnych rozdziałach rozprawy są omawiane, stanowiąc powiązane ze sobą logiczny sposób etapy prowadzonych badań.**

Kolejny rozdział rozprawy **Materiały i metody** obejmuje opis doświadczeń laboratoryjnych i polowych, w tym odnosi się do poszczególnych prac badawczych wykonywanych w ramach każdego z eksperymentów. Doktorantka w czytelny i jasny sposób przygotowała opisy metodyczne, dotyczące izolacji bakterii, określenia wzajemnych interakcji pomiędzy testowanymi bakteriami oraz wpływu koinokulacji na parametry biometryczne roślin oraz kolonizację korzeni przez mikroorganizmy. W ramach doświadczeń polowych opisano szczegółowo lokalizację i schemat doświadczenia, a także warunki meteorologiczne, glebowe i agrotechniczne prowadzonych badań. **W rozdziale szczegółowo omówiono metody i procedury badań mikrobiologicznych i biochemicznych, opisano przeprowadzone testy molekularne, a także dość ogólnie scharakteryzowano analizy odnoszące się do wybranych parametrów wzrostu roślin. Doktorantka w większości jasno opisała zastosowane metody i techniki badawcze, które posłużyły do realizacji poszczególnych etapów badań. Na podkreślenie zasługuje dobrze dobrany zakres testów i oznaczeń, zapewniający przeprowadzenie kompleksowych badań mikrobiologicznych. Należy podkreślić, że doświadczenia zostały zaprojektowane logicznie i wykonane**

prawidłowo, a metody badawcze zostały dobrane właściwie, umożliwiając zrealizowanie podjętego celu rozprawy doktorskiej. Doktorantka przeanalizowała obszerny materiał doświadczalny i opanowała szereg metod wykorzystywanych w klasycznej mikrobiologii rolniczej, których wykorzystanie wymaga dużego nakładu pracy i zaangażowania.

Rozdział **Wyniki** zawiera opisane w sposób syntetyczny wyniki badań uzyskane w ramach prowadzonych eksperymentów laboratoryjnych i polowych. W ramach doświadczeń laboratoryjnych Doktorantka omówiła uzyskane wyniki, przedstawiając najpierw wyniki wzajemnych interakcji pomiędzy zastosowanymi bakteriami symbiotycznymi z rodzaju *Bradyrhizobium* a endofitami *B. subtilis* i *P. fluorescens*, które wykazały brak oddziaływań antagonistycznych pomiędzy testowanymi szczepami, potwierdzając ich przydatność do koinokulacji. Doktorantka wykazała wpływ koinokulacji na masę i długość części nadziemnych roślin. Pomimo tego, że w poszczególnych latach trwania doświadczenia polowego wystąpiły wahania w wartościach testowanych parametrów mikrobiologicznych i biochemicznych, to Doktorantka wykazała tendencje, trendy i różnice pomiędzy testowanymi wariantami, zwłaszcza zwiększenie liczebności poszczególnych grup mikroorganizmów, aktywności enzymatycznej i wzrost aktywności biologicznego wiązania azotu atmosferycznego po zastosowaniu koinokulacji nasion łubinu białego, wskazując na przydatność tej strategii do zastosowania w rolnictwie zrównoważonym. Ważne z punktu widzenia praktyki rolniczej są też wyniki dotyczące plonowania, brodawkowania i parametrów wzrostu roślin, które charakteryzowały się również tendencją wzrostową po zastosowaniu koinokulacji w stosunku do wariantów kontrolnych, choć obserwowany wzrost danego parametru nie zawsze został potwierdzony statystycznie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pokazuje umiejętność Doktorantki do analizy i przedstawienia wyników oraz ich prawidłowego omówienia, co znalazło odzwierciedlenie w tej części dysertacji. Doktorantka prawidłowo scharakteryzowała efekty badań, choć w niektórych miejscach opis wyników mógłby zostać bardziej rozbudowany. Wyniki zostały opisane w sposób uporządkowany i przejrzysty.

Dyskusja stanowiąca kolejny rozdział opracowania jest bardzo dobrze napisaną częścią rozprawy doktorskiej. W tej części rozprawy Doktorantka przeprowadziła wnikliwą dyskusję uzyskanych rezultatów odnosząc się do wyników dostępnych w publikacjach naukowych innych badaczy, co świadczy o bardzo dobrym rozpoznaniu podjętej problematyki badawczej. Zaletą tego rozdziału jest podsumowanie całości prac, w którym Doktorantka wypunktowała najważniejsze osiągnięcia pracy, wykazując, że

koinokulacja wpłynęła na zwiększenie liczebności badanych grup bakterii i grzybów glebowych, ograniczając jednocześnie liczebność promieniowców, których wysoka liczebność jest indykatorem pogarszających się warunków wilgotnościowych gleby. Wykazano również, że koinokulacja wpłynęła na aktywność dehydrogenaz oraz proces biologicznego wiązania azotu, a wynikiem istotnym dla praktyki rolniczej było otrzymanie wyższych plonów po zastosowaniu koinokulacji. Merytoryczną część rozprawy kończy sześć trafnie sformułowanych wniosków.

Podczas czytania i analizy rozprawy nasunęły mi się pewne sugestie i uwagi, które w tym miejscu chciałabym przytoczyć, podkreślając jednocześnie, że mają one głównie charakter dyskusyjny i nie mają one wpływu na moją pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej:

- Rozdział VI Materiały i metody: Doktorantka wybrała do badań bakterie endofityczne *Bacillus subtilis* oraz *Pseudomonas fluorescens* pochodzące z kolekcji Katedry Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej w Poznaniu, jednakże nie umieściła w pracy żadnych informacji dotyczących ich charakterystyki i identyfikacji. Bardzo proszę zatem o uzupełnienie tych informacji, a w szczególności proszę wskazać pochodzenie użytych izolatów – z jakiej rośliny oraz z jakich jej części zostały wyizolowane te mikroorganizmy, a także na jakiej podstawie dokonano ich identyfikacji i przypisano do wskazanych gatunków bakterii.
- Rozdział VI, Podrozdział 1.1.1.: W ramach przeprowadzonych badań wykorzystała Pani szczepy bakterii symbiotycznych wyizolowane z preparatów komercyjnych. Bardzo proszę o uzasadnienie takiego podejścia. Czy nie ciekawsze byłoby testowanie izolatów środowiskowych, co mogłoby przyczynić się do opracowania nowych preparatów, które mogłyby znaleźć zastosowanie w rolnictwie zrównoważonym? Czy zamierza Pani podjąć współpracę z producentami preparatów komercyjnych, którzy mogliby razem z dotychczasowymi preparatami, przygotowywać preparaty do koinokulacji z wykorzystaniem testowanych przez Panią bakterii? Czy przeprowadzone badania są wystarczające do wprowadzenia na rynek testowanych przez Panią szczepów, czy potrzeba jeszcze dalszych badań, a jeśli tak to jakich?
- Rozdział VI, Podrozdział 1.2.4.2.: Opisała Pani test molekularny umożliwiający analizę ilościową glebowych populacji. Sformułowanie tytułu tego rozdziału jest skrótem myślowym i ten tytuł należy przeredagować w przypadku publikacji tych wyników badań. Poza tym wybrana przez Panią reakcja PCR jest testem jakościowym,

pozwalającym na podstawie analizy wybranych markerów molekularnych wykryć obecność danej grupy mikroorganizmów w środowisku glebowym, ale nie jest wiarygodnym testem ilościowym. Czy wykonywała Pani również analizy ilościowe z wykorzystaniem metody qPCR (quantitative PCR)?

- Rozdział VII WYNIKI, podrozdział 1.3.: Fotografia 12 przedstawia obraz spod mikroskopu fluorescencyjnego komórek endofitów wyznakowanych sondami genetycznymi, brakuje jednak informacji dla którego z dziewięciu wariantów doświadczalnych zostało wykonane to obrazowanie. Czy dla pozostałych wariantów zostało wykonane obrazowanie kolonizacji korzeni przez mikroorganizmy? Bardzo proszę o wyjaśnienie tej kwestii. Ponadto, na rycinie 8 przedstawiono wyniki liczebności bakterii endofitycznych kolonizujących korzeń łubinu białego, ale wyniki dotyczą tylko trzech wybranych wariantów eksperymentalnych. Czy w pozostałych wariantach nie stwierdzono obecności tych bakterii? Jeśli tak, to czym Pani mogłaby wytłumaczyć taki efekt? Czy testy przeprowadzono tylko dla wybranych trzech wariantów doświadczalnych? Jeśli testy przeprowadzono tylko dla wybranych wariantów to proszę o uzasadnienie takiego wyboru.
- Rozdział VII WYNIKI, podrozdział 2.2.: Ryciny 9, 10 i 11 mają inny opis osi y niż rycina 12. Proszę o informację, które opisy są poprawne, a także proszę o podanie jednostek dla każdego z tych opisów. Poza tym, tak jak wspomniałam w uwadze, dotyczącej części metodycznej technika PCR nie jest metodą ilościową, a jakościową. Proszę zatem o wyjaśnienie podejścia zastosowanego przez Panią.
- Czy znane są Pani preparaty komercyjne dostępne w Europie czy na świecie stosowane do koinokulacji nasion roślin bobowatych?
- W treść pracy wkradły się drobne błędy edytorskie, głównie „literówki”, które zostały zaznaczone w tekście.

4. Wniosek końcowy

Doktorantka zaprezentowała dobrą znajomość problematyki rozprawy, wykazała umiejętność samodzielnego wykonywania badań naukowych, opanowała warsztat badawczy z zakresu mikrobiologii i biochemii, a także wykazała się zdolnością do opracowania i interpretacji uzyskanych wyników. Dysertacja doktorska Pani mgr inż. Zyty Waraczewskiej jest opracowaniem wnoszącym istotny wkład w rozwój nauk rolniczych w obrębie dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo.

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani mgr inż. Zyty Waraczewskiej spełnia warunki wymagane Ustawą 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 późniejszymi zmianami z dnia 18 marca 2011 roku (Dz. U. Nr 84, poz. 455), w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz. U. poz. 1669) i wnioskuję o jej dopuszczenie do publicznej obrony.

Lublin, 07.10.2021

prof. dr hab. Magdalena Frąc

