

Puławy, dn. 20.06.2024 r.

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

**Zakład Mikrobiologii Rolniczej**

## **RECENZJA**

**rozprawy doktorskiej mgr Joanny Świątczak**

**pt. „Wpływ ryzobakterii na wzrost rzepaku i rodzime społeczności  
drobnoustrojów w ryzosferze”**

Przedłożona do oceny praca doktorska mgr Joanny Świątczak została wykonana na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem dr hab. Marii Świątek Brzezińskiej, prof. UMK. Recenzję rozprawy doktorskiej mgr Joanny Świątek przygotowano na prośbę prof. dr hab. Justyny Rogalskiej Dziekan Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, po wcześniejszym wyborze Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych UMK w Toruniu (Uchwała nr 25 z dnia 19 kwietnia 2024 r.).

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

Problematyka omawianej rozprawy doktorskiej dotyczy aktualnej tematyki oceny bioróżnorodności mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę roślin oraz ich potencjału biotechnologicznego.

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. W ostatnim czasie badania mające na celu poprawę wzrostu i rozwoju roślin

koncentrują się na analizach dotyczących właśnie składu społeczności bakteryjnych i oceny ich potencjału biotechnologicznego. 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.

Gleba jest siedliskiem życia różnych organizmów i nie powinna stwarzać zagrożenia dla zdrowia ludzi oraz stanu środowiska (bioróżnorodności). Stąd też wszelkie próby podjęcia badań dotyczących oceny jej mikrobiomu oraz poszukiwania nowych szczepów o wysokim potencjale biotechnologicznym i promującym wzrost roślin uważam za bardzo cenne i potrzebne. W ten nurt wpisuje się tematyka pracy doktorskiej mgr Joanny Świączak. Należy również dodać, że pomimo bardzo licznych publikacji na powyższy temat, dążenie do poszukiwania nowych szczepów bakteryjnych wydaje się być ciągle niedostateczne, szczególnie w zakresie ciągle zmieniających się warunków środowiskowych. W powyższym kontekście problematyka ocenianej pracy doktorskiej **ma znaczenie 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 są szeroko prowadzone badania molekularne.

## 2. Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Opiniowana rozprawa doktorska ma postać spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych, zgodnie z Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. art. 13 (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.), w związku z artykułem. 179 ust. 3 Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. i przepisach wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30 sierpnia 2018r. poz. 1669).

W skład rozprawy doktorskiej wchodzi cztery publikacje. Są to oryginalne prace naukowe. W każdej z nich Doktorantka jest pierwszym autorem, co świadczy o Jej znaczącym udziale w powstawaniu tych prac. Do dokumentacji nie zostały dołączone oświadczenia pozostałych autorów publikacji, ale w każdym z manuskryptów znajduje się

wykaz udziału każdego z Autorów, w tym Doktorantki w powstawanie pracy. Zbiór publikacji stanowiących osiągnięcie stanowi spójne omówienie rezultatów badań zawartych w następujących publikacjach:

1. **Świątczak, J.**, Kalwasińska, A., Felföldi, T., Swiontek Brzezinska, M., 2023. *Bacillus paralicheniformis* 2R5 and its impact on canola growth and N-cycle genes in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 99(9), p.fiad093. IF – 4,519; MNiSW – 100
2. **Świątczak, J.**, Kalwasińska, A., Szabó, A., Swiontek Brzezinska, M., 2023. The effect of seed bacterization with *Bacillus paralicheniformis* 2R5 on bacterial and fungal communities in the canola rhizosphere. *Microbiological Research*, 275, p.127448. IF – 6,7; MNiSW – 100
3. **Świątczak, J.**, Kalwasińska, A., Swiontek Brzezinska, M., 2024. Plant growth-promoting rhizobacteria: *Peribacillus frigoritolerans* 2RO30 and *Pseudomonas sivasensis* 2RO45 for their effect on canola growth under controlled as well as natural conditions. *Frontiers in Plant Science*, 14, p.1233237. IF – 6,627; MNiSW – 100
4. **Świątczak, J.**, Kalwasińska, A., Szabó, A., Swiontek Brzezinska, M., 2023. *Pseudomonas sivasensis* 2RO45 inoculation alters the taxonomic structure and functioning of the canola rhizosphere microbial community. *Frontiers in Microbiology*, 14, p.1168907. IF – 6,064; MNiSW – 100

Załączone do dysertacji publikacje zostały poprzedzone opracowaniem zawierającym następującą strukturę: Spis treści, Wykaz skrótów, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wstęp oraz Cel pracy i hipotezy badawcze. Na końcu dysertacji zamieszczono rozdziały: Dyskusja i podsumowanie uzyskanych wyników, Wnioski, Literatura oraz *Curriculum Vitae*.

Summary Impact Factor publikacji stanowiących zbiór artykułów według roku publikacji wynosi **23.91**, zaś liczba punktów wg wykazu MNiSW wynosi **400**. Są to zatem bardzo dobre wskaźniki i dowodzą, że oryginalne publikacje twórcze stanowią istotną i bardzo wartościową część rozprawy doktorskiej. Wszystkie prace są współautorskie, a wkład Kandydatki w ich powstanie jest znaczący, co potwierdza Jej kluczową rolę na wszystkich etapach powstawania rozprawy. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że wyniki badań stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej ukazały się drukiem w renomowanych

czasopismach z wysokim współczynnikiem IF, takich jak: *Frontiers in Microbiology*, *Frontiers in Plant Science*, *Microbiology Research* oraz *FEMS Microbiology Ecology*.

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

Układ omawianej pracy jest poprawny i niebudzący większych zastrzeżeń. Ponadto poszczególne rozdziały i podrozdziały są ze sobą logicznie powiązane, stanowią całość, co ułatwia merytoryczną ocenę uzyskanych wyników. Recenzowana rozprawa doktorska jest napisana językiem poprawnym stylistycznie.

Głównym celem pracy jaki postawiła sobie Doktorantka była analiza określenia liczebności ryzobakterii hodowlanych z różnych faz wzrostu rzepaku (wegetatywnej, kwitnienia i dojrzewania), uprawianego w Górsku w województwie kujawsko-pomorskim (publikacja nr 1) i w Ostródzie w województwie warmińsko-mazurskim (publikacja nr 3). Doktorantka udowodniła złożoną dynamikę zbiorowisk drobnoustrojów, ujawniając różnice w liczebności hodowlanych ryzobakterii na różnych etapach wzrostu rzepaku. Doktorantka dysponowała także bardzo dużą kolekcją mikroorganizmów wyizolowanych z ryzosfery rzepaku. Wyizolowała 300 izolatów bakteryjnych: 150 izolatów z ryzosfery korzeni rzepaku uprawianego w Górsku, w tym po 50 izolatów z fazy wegetatywnej, kwitnienia i dojrzewania (publikacja nr 1) oraz 150 izolatów z ryzosfery korzeni rzepaku uprawianego w Ostródzie, w tym po 50 izolatów również z fazy wegetatywnej, kwitnienia i dojrzewania (publikacja nr 3). Przeprowadziła pełną charakterystykę ich właściwości, w tym produkcję kwasu indolilo-3-octowego (IAA), fosforanów, deaminazy ACC, sideroforów, chitynaz, cyjanowodoru (HCN) i amoniaku.

W badaniach skoncentrowała się na związku między liczebnością ryzobakterii izolowanych z różnych faz wzrostu rośliny, a ich właściwościami PGP. Na szczególną uwagę zasługuje szeroki wachlarz analiz molekularnych. Poza analizą metataksonomiczną oraz analizą pełnych genomów bakteryjnych, Doktorantka skoncentrowała się także na poszukiwaniu genów i biosyntetycznych klastrów genów odpowiedzialnych za biokontrolę patogenów roślin. W analizie genomu *B. paralicheniformis* 2R5 wykazała obecność wielu klastrów genów odpowiedzialnych za syntezę biologicznie czynnych metabolitów wtórnych, wśród których dominowały klastry genów kodujące syntetazy nierybosomalnych peptydów (bacylibaktyna, fengycyna), tiopeptydy (butirozyna A, butirozyna B) i

lantipeptydy (haloduracyna  $\beta$ , haloduracyna  $\alpha$ ). W genomie *B. paralicheniformis* 2R5 potwierdziła występowanie klastrów genowych, których sekwencje są identyczne z sekwencjami kodującymi antybiotyki bacytracynę oraz lichenizynę, wykazującą działanie przeciwnowotworowe i przeciwdrobnoustrojowe. Z kolei analizując genom *P. sivasensis* 2RO45 wykazała obecność biosyntetycznych klastrów genów kodujących syntetazy nierybosomalnych peptydów (syringomycyna, piowerdyna), terpeny (enterobaktyna), arylopolieny (arylopolien VF), betalaktony (fengycyna) i kofaktor redoks (lankacydyna C).

Doktorantka skupiła się także w swoich badaniach na szerokiej analizie profilu metabolicznego społeczności mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę rzepaku.

Poniżej przedstawiam moje uwagi i pytania dotyczące niniejszej rozprawy doktorskiej:

- Doktorantka przedstawiła w rozprawie trzy główne wnioski, które jednak w mojej opinii są raczej podsumowaniem przeprowadzonych badań a nie rzeczywistymi wnioskami. Wnioski te powinny zostać przeredagowane.
- W opisie wyników badań często Doktorantka stosuje skrót myślowy „rzepak z Górka”, „ryzosfera rzepaku pobranego z Ostródy”. W przypadku opracowań polskojęzycznych zapisy te powinny zostać poprawione.
- proszę o rozszerzenie informacji na temat właściwości fizykochemicznych gleb z obu miejscowości, na których był uprawiany rzepak. Proszę o podanie podobieństw i różnic, które mogłyby mieć związek ze zmianami w populacji zasiedlających je mikroorganizmów.
- Czy Doktorantka oceniała także warunki pogodowe w obu lokalizacjach i jeśli tak to czy mogłyby one mieć wpływ na otrzymane wyniki?
- proszę o odpowiedź na pytanie: jakie według Pani właściwości powinien posiadać szczep, aby mógłby być użyty w biopreparacie promującym wzrost roślin? Czy taki szczep powinien występować pojedynczo czy w konsorcjum?


#### **4. Wniosek końcowy**

Podsumowując recenzowana rozprawa doktorska stanowi ciekawe rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną mgr Joanny Świączak. Doktorantka dowiodła, iż posiada wystarczającą 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 Doktorantkę 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 Dyscypliny Nauk Biologicznych UMK w Toruniu o dopuszczenie Pani mgr Joanny Świątczak do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Jednocześnie ze względu na duże walory poznawcze i aplikacyjne otrzymanych wyników badań oraz zwracając szczególną uwagę na jego wymiar praktyczny wnoszę wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Joanny Świątczak stosowną nagrodą. Swoją rekomendację popieram także opublikowaniem przez Doktorantkę publikacji w renomowanych, wysokimpaktowych czasopismach naukowych.



dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB