



**Państwowa Akademia
Nauk Stosowanych
w Przemyślu**

Przemyśl, dnia 21 października 2024 r.

R E C E N Z J A

**rozprawy doktorskiej pt.: „Występowanie oraz charakterystyka
promieniowców celulolitycznych i ksylanolitycznych
w wybranych glebach łąkowych Polski”
wykonanej przez mgr inż. Beatę Zielińską-Polit
z Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego
Państwowego Instytutu Badawczego w Falentach
pod kierunkiem prof. dr hab. Stefana Russela.**

1. Ocena problematyki rozprawy

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pod w/w tytułem jest stosunkowo zwięzłym maszynopisem, bo liczącym tylko 163 stron tekstu, jest napisana w tradycyjnym układzie, obejmującym bardzo obszerny 35-stronicowy przegląd literatury, nazwany wstępem, poprzedzony jednostronicowym streszczeniem pracy w języku polskim i angielskim oraz wprowadzeniem wraz z celem pracy i postawionymi hipotezami badawczymi. We wstępie Autorka zamieściła 3 kolorowe rysunki oraz 3 schematy przedstawiające wzory chemiczne ksylanu. Omówieniu materiału biologicznego i metod użytych w badaniach jest poświęcony 18 stronicowy rozdział – materiał i metody badań, a kolejną bardzo obszerną część tekstu, bo liczącą aż 77 stron to interesujące wyniki badań, które zilustrowano 41 tabelami, 19 wykresami, 46 fotografiami oraz 17 sekwencjami nukleotydowymi, które posłużyły do identyfikacji siedemnastu wyizolowanych promieniowców co stanowi bardzo obszerną i wyjątkowo dobrze przedstawioną dokumentację pracy. Po wynikach następuje, 10-stronicowa dyskusja najważniejszych wyników, podsumowująca całość badań. Końcowy rozdział to piśmiennictwo, liczące 224 cytowania, w większości oryginalnych prac z ostatniego dziesięciolecia, które wykorzystano we wstępie pracy, celem wprowa-

dzenia czytelnika w omawiany problem oraz w dyskusji wyników. Ciekawostką są trzy prace dotyczące promieniowców z 1928 roku autorstwa Subrahmanyana'a i największego autorytetu od promieniowców tj. S. Waksmana z 1943 roku. Na początku maszynopisu znajduje się spis treści. W treści rozprawy znalazłem liczne błędy literowe i stylistyczne, które w kontekście rozmiaru pracy są nieistotne, tak że nie będę ich cytować. Układ tekstu jest przejrzysty, kolejność rozdziałów logiczną, a jakość dokumentacji wysoką.

Jednymi z najważniejszych problemów współczesnej cywilizacji są zagadnienia dotyczące wyżywienia wzrastającej liczby ludności, dostępu do źródeł wody i energii oraz zachowanie naturalnego środowiska w stanie nie gorszym niż go zastaliśmy. Stąd świadomość naszych związków ze środowiskiem, w którym żyjemy, zaczyna dominować w większości podejmowanych przez człowieka działań związanych z eksploatacją zasobów przyrody i wymusza działalność proekologiczną. Do ludzi dociera świadomość, że podejmując niekiedy proste działania, można nie niszczyć podstawowych elementów środowiska wyeliminować szkodliwe czynniki z naszego otoczenia, a prowadząc odpowiedni styl życia zachować zdrowie na długie lata.

Nasze bogactwa naturalne i zasoby środowiska mocno nadwerężone w przeszłości, bez wątpienia nie wytrzymają dalszych obciążeń. Eksperci już dziś ostrzegają, szczególnie w krajach rozwijających się, a także i w Polsce, że wzrastająca liczba ludności pociągnie za sobą wzrost zanieczyszczenia środowiska. Wydaje się, że nowoczesne procesy biotechnologiczne wykorzystujące najnowsze zdobycze wiedzy z zakresu ekologii, biologii molekularnej, genetyki, inżynierii genetycznej i mikrobiologii mogą sprostać stojącym przed ludzkością zadaniom i przyczynić się do zmniejszenia zanieczyszczenia środowiska oraz zapewnić dostateczną ilość żywności i energii. Nic więc dziwnego, że temat pracy doktorskiej p. mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit związany jest z biologią, aktywnością i właściwościami biochemicznymi promieniowców, które odpowiednio zmodyfikowane metodami inżynierii genetycznej będzie można wykorzystać ich potencjał enzymatyczny w szczególności producentów enzymów celulolitycznych i ksylanolitycznych do produkcji wielu cennych związków chemicznych w tym chociażby alkoholi, głównie etanolu z pentoz zawartych, w ligninie i celulozie, co może znaleźć zastosowanie w produkcji biopaliw. Należy zaznaczyć, że w chwili obecnej nie ma na świecie ani jednej efektywnej oraz opłacalnej technologii, która pozwalałaby na konwersję surowej biomasy roślinnej do etanolu. Dlatego też na całym świecie poszukuje się skutecznych i szybkich metod pozwalających na konwersję materiału ligninocelulozowego do

cukrów prostych, a następnie wykorzystać je do produkcji alkoholi. Jak na razie wydaje się, że wykorzystanie metod biotechnologicznych z zastosowaniem mikroorganizmów w tym promieniowców są jednymi z najefektywniejszych sposobów, które mogą już w niedalekiej przyszłości rozwiązać ten ważny problem. Oczywiście proces biodegradacji ligninocelulozy przez drobnoustroje jest wieloetapowy i uwarunkowany wieloma czynnikami, których jeszcze dokładnie nie znamy. Te skomplikowane warunki przebiegu biokonwersji wskazują jak trudnym jest to proces i ile jeszcze trzeba szczegółowych badań, aby otrzymywać w tani sposób ten pożądaný produkt jakim są alkohole-biopaliwa tzw. trzeciej generacji. Dlatego też oceniana praca doktorska jest takim przyczynkiem, która wskazuje, że warto zwrócić uwagę na tę niedocenianą grupę drobnoustrojów jakim są promieniowce, powszechnie występujące w środowisku glebowym, a producentów wielu enzymów.

Dlatego jestem pełen uznania za trud podjęcia badań zmierzających do poznania warunków występowania i dogłębną charakterystykę wraz z badaniami biochemicznymi tej ważnej grupy drobnoustrojów glebowych jakim są promieniowce. Głównym celem pracy była ocena występowania promieniowców celulolitycznych oraz ksylanolitycznych w wybranych glebach łąkowych Polski. Drugorzędnym celem była izolacja promieniowców ze środowisk gleb łąkowych, zwłaszcza promieniowców celulolitycznych i ksylanolitycznych, a kolejnym etapem badań była charakterystyka morfologiczna, fizjologiczna i biochemiczna wyizolowanych mikroorganizmów.

2. Ocena pracy pod względem metodycznym

Przystępując do oceny recenzowanej pracy, jako rozprawy doktorskiej pragnę zaznaczyć, że zebrane wyniki dotyczą ogromnego zakresu badań wykonanych w warunkach laboratoryjnych. Powyższe badania stanowią cenne osiągnięcie naukowe z zakresu biologii promieniowców ich ekologii, fizjologii i biochemii, wyjaśniające wiele problemów związanych z ich właściwościami. Zastosowane metody badawcze oparte są na powszechnie stosowanych metodach mikrobiologicznych, fizycznych, genetycznych i chemicznych, są właściwie dobrane oraz zastosowane, pozwalające na udowodnienie postawionych hipotez i celu. Praca wykonana jest poprawnie pod względem metodycznym. Na szczególne podkreślenie zasługują badania nad wykorzystaniem wyizolowanych szczepów promieniowców w rozkładzie celulozy, ksylanu i skrobi, a także nad wpływem różnych czynników na aktywność enzymów. Powyższe badania

Doktorantka przeprowadziła wyjątkowo starannie, w licznych powtórzeniach, co zaowocowało wieloma bardzo interesującymi wynikami, które być może znajdą praktyczne zastosowanie w procesach biotechnologicznych związanych z wykorzystaniem biomasy roślinnej celem otrzymywania cennych alkoholi służących jako biopaliwo.

3. Ocena pracy pod względem merytorycznym

Z obowiązku recenzenta powinienem wskazać jakieś nieścisłości, niekompletne tezy, czy też inne niejasności w ocenianej rozprawie doktorskiej, dlatego mam parę uwag, które będą wymagały dodatkowych wyjaśnień.

Oceniana praca doktorska zawiera część wstępną-przeglądową, w której autorka opisuje dotychczasowy dorobek naukowy w tej dziedzinie, dając wyraz swej orientacji w najnowszych osiągnięciach badawczych nad rolą i znaczeniem drobnoustrojów w tym niektórych gatunków promieniowców w produkcji różnych związków, które można by wykorzystać, w technologiach przemysłowych. Szczegółowo analizuje znaczenie i rolę mikroorganizmów w obiegu biogenów w przyrodzie zwracając uwagę na przemiany biomasy roślinnej. Opisuje różne mechanizmy i zależności między mikroorganizmami glebowymi, ich aktywność, liczebność, wpływ na rośliny i cały ekosystem. Z kolei przedstawia dane o trwałych użytkach zielonych w Polsce, po czym przechodzi do systematyki promieniowców i zaczyna charakteryzować promieniowce. Zaczynając od historii badań nad promieniowcami, warunkami ich rozwoju, ekologią i znaczeniem w środowisku glebowym oraz możliwościami ich wykorzystania w produkcji biopreparatów. W dalszej części wstępu Autorka szczegółowo charakteryzuje celulozę, ksylan i kilka enzymów czynnych w rozkładzie ksylany

Głównym celem wykonanej pracy doktorskiej były badania nad występowaniem promieniowców celulolitycznych oraz ksylanolitycznych w wybranych glebach łąkowych Polski, stąd Autorka zastosowała cały szereg prostych metod mikrobiologicznych, które pozwoliły jej na ich izolację i szczegółową charakterystykę. Próbkę gleb pobrano z łąk na terenie całej Polski w prawidłowy sposób i scharakteryzowano je pod względem chemicznym wykorzystując dane z OSCHR. Badania mikrobiologiczne z zastosowaniem specyficznych podłoży, opisy mikroskopowe, oznaczanie zdolności metabolicznych, enzymatycznych, biochemicznych jak i analiz molekularnych wykonano prawidłowo. Zastosowanie tych różnych metod pozwoliły Autorce uzyskać wiele informacji które

przedstawiono w treści pracy w postaci, tabel, wykresów, fotografii i sekwencji nukleotydowych. Szczególnie interesujące są wyniki dotyczące m.in.:

1. Oznaczenie liczebność promieniowców w glebach łąkowych ITP-PIB,
2. Określenie liczebność promieniowców celulozowych i ksyalnolitycznych w wybranych glebach łąkowych,
3. Określenie dynamika wzrostu badanych szczepów,
4. Zbadanie wpływ pH oraz stopnia zasolenia na wzrost badanych promieniowców,
5. Oznaczenie zdolności promieniowców do rozkładu polisacharydów,
6. Ocena właściwości celulozowe promieniowców w hodowlach płynnych,
7. Ocena zdolność rozkładu celulozy, ksylanu oraz skrobi,
8. Charakterystyka aktywności enzymatycznej wybranych szczepów,
9. Określenie aktywność celulozowa promieniowców,
10. Ocena zmian aktywności endo-1,4- β -ksylanazy w hodowlach wybranych szczepów promieniowców,
11. Charakterystyka biochemiczna wybranych szczepów,
12. Oznaczenie właściwości antagonistyczne wyizolowanych promieniowców,
13. Wykonanie analizy molekularnej, sekwencje nukleotydowe 17 promieniowców,
14. Charakterystyka mikroskopowa promieniowców w: mikroskopie świetlnym, mikroskopie fluorescencyjnym i mikroskopie elektronowym skaningowy.

Przeprowadzone badania są bardzo ważne pod względem naukowym i nie budzą żadnych zastrzeżeń natury merytorycznej. Jako oryginalne i bardzo ciekawe wnoszą one nowe elementy poznawcze do fizjologii, ekologii i aktywności promieniowców w procesie rozkładu celulozy, lignin i skrobi. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że różne czynniki środowiskowe mają istotny wpływ na występowanie promieniowców w glebach łąkowych i ich aktywność metaboliczną.

Na podstawie uzyskanych wyników z wykonanych badań autorka przeprowadziła dyskusję wyników w którym tylko porównywała swoje wyniki z innymi uzyskanymi przez licznych autorów. Mam niedosyt wynikający z tego, że autorka mając tak wiele cennych wyników nie dokonała bardziej dogłębnej analizy swoich wyników. Powinna wskazać na wartość uzyskanych wyników i ich praktyczne zastosowanie w zakresie, który wskazała we wstępie tzn. wykorzystania ich w otrzymywaniu różnych produktów i enzymów pozwalających dokonywać biokonwersji masy roślinnej w określonym kierunku (etanol – biopaliwa trzeciej generacji). Również wnioski, sprecyzowane są zbyt ogólne i nie oddają idei, której poświęcony był główny cel przeprowadzonych badań.

Z obowiązku recenzenta powyższej rozprawy doktorskiej, zgłaszam następujące uwagi oraz proszę o dokładniejszą informację w sprawie:

1. Co Pani rozumie pod pojęciem – „Alternatywne źródła energii”?
2. Proszę wyjaśnić, co to są paliwa pierwszej, drugiej i trzeciej generacji?
3. Proszę omówić główne etapy łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) i w jaki celu jej się używa?
4. Jak wygląda współczesny podział świata ożywionego wg Carla Woese'a?
5. We wstępie (str.24) wspomina Pani o Efektywnych Mikroorganizmach (EM), a kto jest główny propagatorem tych preparatów?
6. Jakie są zasady pisania nazw gatunkowych organizmów po łacinie (str.28, 29)?
7. Podanie uzyskanych pełnych sekwencji nukleotydowych wyizolowanych promieniowców było niepotrzebne, bo żaden czytelnik nie jest to sprawdzić.
8. Charakteryzując łąki w Polsce nie podała Pani do jakich systematycznych zbiorowisk roślinnych należały badane łąki.

Moje uwagi - nie mają charakteru krytycznego i oczywiście nie wpływają w najmniejszym stopniu na wartość naukową pracy, a są jedynie pytaniami i uwagami w dyskusji oraz powinny służyć lepszemu przygotowaniu pracy do druku.

4. Ocena pracy pod względem formalnym i strukturalnym

Przedstawioną rozprawę p. mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit oceniam pozytywnie. Uzyskane w Jej pracy wyniki wzbogacają naszą wiedzę z zakresu mikrobiologii, ekologii, fizjologii promieniowców i procesów biochemicznych jakie mogą one przeprowadzać. Gromadzenie tego rodzaju faktów jest szczególnie cenne w obecnym czasie, kiedy obserwujemy gwałtowne zapotrzebowanie na nowe związki (enzymy, antybiotyki, hormony itp.) dla przemysłu, farmacji i rolnictwa. Należy podkreślić, że praca wykonana jest poprawnie pod względem formalnym i stylistycznym oraz nie budzi zastrzeżeń natury naukowej i merytorycznej.

5. Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę powyższe dane dotyczące oceny formalnej, metodycznej, naukowej i merytorycznej pracy doktorskiej pani mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit, pt.:

„Występowanie oraz charakterystyka promieniowców celulolitycznych i ksylanolitycznych w wybranych glebach łąkowych Polski”,

stwierdzam, że powyższa rozprawa stanowi niewątpliwie oryginalne i cenne osiągnięcie naukowe doktorantki w zakresie mikrobiologii i ekologii. Wykazała w prezentowanej pracy umiejętność organizacji i samodzielnej realizacji badań. Duża znajomość literatury przedmiotu, opanowanie techniki badawczej z zakresu mikrobiologii i analityki - wskazują na dobre przygotowanie doktorantki do pracy naukowej. Powyższa praca powinna być opublikowana.

W świetle powyższych danych uważam, że rozprawa doktorska pod w/w tytułem wykonana przez p. mgr inż. Beatę Zielińską-Polit z Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego w Falentach, pod kierunkiem p. prof. dr hab. Stefana Russela w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim. W związku z powyższym stawiam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu o dopuszczenie mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit do dalszych etapów postępowania przewodu doktorskiego.



Prof. zw. dr hab. Wiesław BARABASZ