



prof. dr hab. Inż. Andrzej Nowak

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa

Zakład Chemii, Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska

ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin,

tel. +48 (0) 91 4250234, fax. +48 (0) 91 4250234, +48 (0) 91 4425690

tel. kom.: +48 91 (0)603 077 396, e-mail: anowak@agro.ar.szczecin.pl

pryw.: ul. Majowa 36 m 1, 71-347 Szczecin, tel. +48 (0) 91 4526296



Szczecin, dnia 21. Października 2024

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit, pt.

WYSTĘPOWANIE ORAZ CHARAKTERYSTYKA PROMIENIOWCÓW CELULOLITYCZNYCH I KSYLANOLITYCZNYCH W WYBRANYCH GLEBACH ŁĄKOWYCH POLSKI

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit pt. Występowanie oraz charakterystyka promieniowców celulolitycznych i ksyłanolitycznych w wybranych glebach łąkowych Polski, której promotorem jest prof. dr hab. Stefan Russel, wykonanej na zlecenie Dyrektora Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego – PIB w Falentach, prof. dr hab. inż. Wiesława Dembka, na podstawie Uchwały Rady Naukowej Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego – PIB w Falentach.

Obecnie enzymy znajdują szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach przemysłu lub przetwórstwa. Jest to więc przemysł piekarniczy, produkcja jedzenia dla niemowląt, browarnictwo, gorzelnictwo, winiarstwo, produkcja soków owocowych, mleczarstwo i wytwarzanie serów, zmiękczenie mięsa, przemysł skrobiowy, przemysł papierniczy, wytwarzanie biodetergentów, przemysł gumowy wreszcie produkcja biopaliw. Ostatnie z wymienionych zastosowań nabiera aktualnie dużego znaczenia. Produkcja biopaliw wymaga użycia specjalnie dobranych, aktywnych i stabilnych enzymów, potrzebnych do przeprowadzania pożądaných przemian biochemicznych. Źródłem takich enzymów mogą być mikroorganizmy przystosowane do bytowania w środowiskach o dużym dopływie celulozy i substancji lignocelulozowych i dobrze przystosowane do metabolizowania tych substancji. Jednym z takich środowisk są gleby łąkowe, charakteryzujące się nie tylko wysoką zawartością pożądaných substratów, ale także bogactwem i znaczną różnorodnością mikroflory. Duże znaczenie dla uzyskania pożądaných mikroorganizmów mają promieniowce, charakteryzujące się ponadprzeciętną aktywnością enzymatyczną i szerokim spektrum metabolizowanych substratów. Wynika stąd konieczność poznania populacji organizmów z tej grupy, zasiedlających różne środowiska. Z tego punktu widzenia, a także mając na względzie wzbogacenie wiedzy o środowisku glebowym, temat pracy doktorskiej mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit - Ocena populacji promieniowców celulolitycznych oraz ksyłanolit-

tycznych w glebach łąkowych oraz dokonanie ich charakterystyki morfologicznej, fizjologicznej i biochemicznej można ocenić jako ważny i potrzebny a uzyskane wyniki mogą stać się nie tylko źródłem cennych informacji o tym środowisku, ale także przyczynić się do uzyskania cennych szczepów, przydatnych w praktyce do produkcji biopaliw.

Praca doktorska Pani mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit obejmuje 168 stron, zawiera 41 tabel (oraz 9 w dodatkowym opisie statystyki), 19 rycin (oraz 6 w dodatkowym opisie statystyki), 46 fotografii oraz 224 pozycje literatury. Zawiera rozdziały: WPRPOWADZENIE I CEL PRACY, PRZEGLĄD LITERATURY, MATERIAŁ I METODY BADAŃ, WYNIKI, DYSKUSJA WYNIKÓW, WNIOSKI, BIBLIOGRAFIA ORAZ ANALIZA STATYSTYCZNA..

Celami, jaki postawiła sobie Doktorantka (rozdział WPRPOWADZENIE I CEL PRACY) była ocena występowania promieniowców celulozycznych oraz ksylanolitycznych w wybranych glebach łąkowych Polski, izolacja tych promieniowców oraz dokonanie charakterystyki morfologicznej, fizjologicznej i biochemicznej izolatów.

Rozdział PRZEGLĄD LITERATURY jest obszernym zestawieniem informacji literaturowych na temat gleby jako środowiska bytowania drobnoustrojów, systematyki promieniowców, ich charakterystyki oraz ekologii. Rozdział zawiera także opis budowy i właściwości celulozy i ksylanu. Zebrana przez Doktorantkę literatura jest bogata a cytowane pozycje to w znacznej mierze najnowsze artykuły z czasopism o międzynarodowym zasięgu. Doktorantka szczegółowo omawia glebę i warunki w niej panujące a także ilości, rozmieszczenie i sposób życia różnych organizmów, jakie w niej bytują. Następnie zajmuje się promieniowcami, zaczynając od ich systematyki, przy czym ogranicza się jedynie do przepisania na 3 stronach listy rzędów i rodzin, co jak sądzę jest zupełnie zbyt wiele, gdyż można taką listę bez trudu znaleźć w *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Następnie Autorka przedstawia charakterystykę promieniowców i ich ekologię. Porusza w tej części przeglądu wiele zagadnień dotyczących budowy, morfologii, wzrostu czy zarodnikowania, charakteryzuje aktywność enzymatyczną tych organizmów oraz spektrum substratów, jakie mogą metabolizować. Wspomina o wytwarzaniu barwników oraz interakcjach z roślinami i innymi organizmami. Wreszcie poświęca nieco miejsca wynikom badań nad występowaniem promieniowców w różnych środowiskach. Następnie Doktorantka opisuje budowę i enzymy aktywne w degradacji celulozy i ksylanu. Rozdział PRZEGLĄD LITERATURY jest obszerny, zróżnicowany tematycznie i podbudowany piśmiennictwem. Na pewno wymagał wiele pracy i zapoznania się z literaturą światową przedmiotu. Mimo wszystko pozostawia pewien niedosyt. Celem zamieszczenia takiego rozdziału nie jest przecież wykazanie, jak duża jest u Autorki znajomość jakiejś szerokiej dziedziny wiedzy, lecz na podstawie cytowanych publikacji wskazanie czytelnikowi konkretnego problemu naukowego, stanu wiedzy na jego temat oraz braków tej wiedzy czy nierozwiązanych jeszcze problemów, jakie się z nim wiążą. Ma to doprowadzić do postawienia sobie przez Autorkę pytań i sformułowania na tej podstawie celu podejmowanych badań. Stąd uważam, że lepiej byłoby przedstawić cele pracy po przeglądzie literatury a nie przed nim. Cele pracy powinny logicznie wynikać i być uzasadnione przedstawionym przeglądem literatury. Tymczasem na 24 strony tego rozdziału, kwestii występowania promieniowców w glebach poświęcone jest jedynie 19 wierszy a o glebach łąkowych jest jedna wzmianka. Brak uzasadnienia cytowanymi pracami dla wyrażonej przez Doktorantkę (choć prawdziwej) w rozdziale WPRPOWADZENIE I CEL PRACY opinii o braku wystarczającej wiedzy na temat występowania populacji promieniowców w glebach łąkowych. Również temat aktywności celulozycznej oraz ksylanolitycznej promieniowców, który jest jednym z głównych celów pracy, jest w przeglądzie literatury jedynie pobieżnie zaznaczony.

Sposób przeprowadzenia badań jest opisany w rozdziale MATERIAŁ I METODY BADAŃ. Opis ten jest bardzo dokładny i pozwala na pozytywną ocenę zasadności użytych metod z punktu widzenia postawionych celów badawczych. Jedynie w opisie gleb wybranych do izolacji promieniowców Autorka nie podaje kryteriów tego wyboru oraz nie jest jasne na jakiej podstawie ustalone zostały „specjalnie wyznaczone miejsca” do pobierania próbek. Zastanawia też, dlaczego przy ocenie liczebności promieniowców w glebach użyta została pożywka skrobiowa „z dodatkiem nystatyny lub actidionu” a nie często używana pożywka skrobiowo-kazeinowa o szerszym spektrum substratowym, czy pożywka Pochona. Zastosowanie pożywki z jednym tylko substratem może powodować pewną selekcję szczepów podczas izolacji z gleby i uzyskiwanie zaniżonych liczebności. Nie jest też jasne, kiedy i dlaczego użyta była nystatyna a kiedy actidion. Czy na skutek wynikającego z użycia różnych dodatków do pożywki, a więc zróżnicowania ich składu nie jest możliwa pewna niejednorodność uzyskanych wyników? Może należało do ograniczenia wzrostu na pożywkach innych poza promieniowcami organizmów użyć często stosowanego w tym celu dodatku pirogronianu sodowego? W rozdziale 3.5.2 nie podano, jak była wykonywana ocena wzrostu. Prawdopodobnie przez pomiary średnicy kolonii, ale to należałoby napisać. Jednakże ogólnie w opisie metodyki zwraca uwagę bardzo szeroki zakres założonych doświadczeń oraz wykonanych analiz. Doktorantka stosowała metody bardzo zróżnicowane, obok klasycznych metod mikrobiologicznych także nowoczesne techniki genetyczne, testy API czy też obserwacje przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego. Świadczy to o dobrym opanowaniu warsztatu metodycznego a także umożliwia uzyskanie kompleksowej, wielostronnej charakterystyki badanych szczepów i ich właściwości. Ogólnie można stwierdzić, że zastosowana metodyka jest prawidłowa, odpowiednia dla założonych celów badawczych i pozwala na uzyskanie znacznej ilości wartościowych danych.

Rozdział WYNIKI jest bardzo obszerny. Na 77 stronach wyczerpująco przedstawione są uzyskane rezultaty, skomentowane i zilustrowane wieloma tabelami, wykresami i dobrej jakości fotografiami. Doktorantka kolejno przedstawia charakterystykę ekologiczną promieniowców, w tym liczebność w glebach łąkowych i dynamikę ich wzrostu, wpływ pH oraz stopnia zasolenia na wzrost, zdolność do rozkładu polisacharydów (celuloza, ksylan, skrobia), charakterystykę aktywności enzymatycznej (celulaza i endo-1,4- β -ksylanaza), właściwości antagonistyczne, wyniki analizy molekularnej oraz charakterystykę mikroskopową (mikroskop świetlny, fluorescencyjny i skaningowy mikroskop elektronowy). Składa się to na pełny obraz uzyskanych w badaniach danych i raz jeszcze pokazuje ogrom wykonanej przez doktorantkę pracy. Uwagi można mieć natomiast do przygotowania niektórych wykresów. Na wykresach nr 1-12 oś odciętych opisana jest jako „terminy” a są to raczej miesiące, na wykresach nr 15-16 opis osi rzędnych jest ustawiony niewłaściwie a na wykresach nr 13-14 oraz 18-19 zupełnie brak opisów osi.

W kolejnym rozdziale Doktorantka dokonuje dyskusji wyników, opierając się na bogatej i odpowiednio dobranej merytorycznie literaturze przedmiotu. Przedstawia kolejno uzyskane wyniki wskazując, czy są one zgodne czy też odmienne od uzyskanych przez innych badaczy. Byłoby jednak cenne podjęcie prób wyjaśnienia tej zgodności lub odmienności, ale przede wszystkim dokonanie syntetycznej interpretacji danych. Tak duża ilość wyników uzyskanych w niniejszej pracy stwarza bowiem szerokie możliwości ich zestawienia oraz dokonania uogólnień, występujących zależności i prawidłowości.

Rozdział WNIOSKI nie należy do najmocniejszych fragmentów rozprawy. Są one wprawdzie odpowiednie do treści pracy i korespondują z celami badań, jakie Doktorantka sobie założyła, jednak cechuje je wysoki poziom ogólności i całkowity brak konkretnych informacji, których

przecież tak dużo zostało uzyskanych w badaniach. Niektóre z wniosków można by niemal sformułować w zasadzie bez wykonywania jakichkolwiek badań (np. wnioski 1, 6, 10).

Do najcenniejszych wyników uzyskanych w pracy można zaliczyć zebranie dużej ilości danych o liczebności i rodzajach promieniowców zasiedlających gleby łąkowe. Informacje te opierają się na bogatym materiale zebrany przez Doktorantkę. Bardzo ważna i ciekawa jest charakterystyka wyizolowanych z gleb łąkowych szczepów, w tym ich cech morfologicznych oraz danych o aktywności enzymatycznej a także właściwościach antagonistycznych jak również informacje o wpływie warunków środowiskowych na promieniowce: pH i zasolenie na wzrost oraz temperatury i pH na aktywność enzymatyczną.

Z obowiązku recenzenta chcę przedstawić kilka uwag. Dotyczą one głównie sposobu napisania pracy, nieporadnego lub niechlujnego. Oto kilka przykładów:

Str. 11 „*wzrost ludzkości...*” chyba: wzrost ilościowy ludzkości.

„... *alg lub glonów...* A to nie to samo? Glony to po łacinie *Algae*.

Str. 12 „*bioróżnorodność biologiczna*” Trochę masło maślane.

Str. 13 „*Gleba to górna warstwa skorupy ziemskiej, składa przede wszystkim...*” Powinno być: *składa się*.

„...*procesowi humifikacji prowadzonej m.in. przez drobnoustroje...*” Humifikacja, podobnie jak cały metabolizm gleby to proces mikrobiologiczny. Inne czynniki, jak przemiany chemiczne czy fizyko-chemiczne mają niewielkie znaczenie. Stwierdzenie „...*między innymi...*” sugeruje równy, albo nawet marginalny udział mikroorganizmów a może nawet humifikację całkowicie abiotyczną.

Str. 15 „...*(z ang. viable but nonculturable) dosłownie „żywe lecz niezdolne do wzrostu...*”, Poprawne tłumaczenie . żywe lecz niehodowalne (niezdolne do hodowli i wzrostu na pożywkach w laboratorium). Natomiast zdolne do wzrostu w środowisku.

Str. 20 „...*prosto łańcuchowe...*” Powinno być prostolańcuchowe a lepiej: o prostych łańcuchach.

Str. 23 „...*pestycydy chloro organiczne...*” Powinno być: pestycydy chloroorganiczne. W pracy jest więcej przypadków tego rodzaju błędnej pisowni.

„...*karbaminy...*” co to takiego? Pewnie chodzi o karbaminiany.

Str. 25 „*Jak podaje Waksman [1950] promieniowce są rozpowszechnione w środowisku, że trudno znaleźć substrat całkowicie ich pozbawiony, chociaż ich występowanie niektórych z nich może być przykładem allechticznego pochodzenia [Waksman 1950].*” Przykład stylu autorki.

Str. 50 „*Na szalki z wyrosłymi koloniami promieniowców, w miejscu określanym jako rysa główna, przesiewano bakterie testowe w miejscu rysów bocznych, z zachowaniem 1 mm odległości, w trzech powtórzeniach.*” Zdanie całkowicie niezrozumiałe.

Str. 51 „...*Komórki promieniowców zostały zebrane w 1,5 ml eppendorfie...*” chodzi zapewne o próbówki Eppendorfa – Żargon laboratoryjny.

Str. 133 „...*niewiele jest danych dotyczących środowisk łąkowych, przeważają natomiast badania gleb użytkowanych rolniczo.*” Łąkarstwo stanowi część gospodarki rolnej. Nie bez powodu katedry łąkarstwa są na wszystkich wydziałach rolniczych. Błędem jest oddzielanie łąkarstwa od rolnictwa.

„*Ponadto zakłada się, że typ gleby charakteryzuje się określona specyficzna różnorodności i aktywności mikroorganizmów glebowych [SIEBIELEC I IN. 2015]*”
Jeszcze jeden przykład.

Str. 134 Jak można trzy kolejne akapity zaczynać od: „*Natomiast...*”.

Str. 142 „*Kolonie wyizolowanych szczepów promieniowców miały brzegi przeważnie regularne lub nieregularne...*” Przypomina mi to żartobliwe przysłowie: jeśli na świętego Prota jest pogoda albo słońce, na świętego Hieronima pada deszczyk lub go nie ma.

Nazwy systematyczne są na ogół pisane są kursywą, jak to jest przyjęte, ale nie wszędzie...

To tylko niektóre z przykładów błędów, jakich jest w tekście dużo więcej. Są to błędy stylu, składni, błędy maszynowe a niekiedy błędy merytoryczne. Przedstawienie rozprawy w takiej postaci świadczy o braku staranności. Praca lub jej fragmenty, w przypadku publikowania powinna być gruntownie przerezegowana.

Wszystkie usterki, przedstawione w recenzji nie przekreślają wartości pracy. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska dotyczy ciekawego i ważnego tematu i dostarcza bardzo dużo interesujących informacji. Badania były dobrze zaplanowane i poprawnie wykonane, z zastosowaniem właściwie dobranej i bardzo zróżnicowanej metodyki, w tym wielu nowoczesnych oznaczeń. Wyniki przedstawione są zrozumiałe i kompletnie. Wszystko to świadczy, że Doktorantka ma dużą wiedzę w swojej dziedzinie oraz że potrafi planować i wykonywać badania naukowe.

Wniosek końcowy: Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa mgr inż. Beaty Zielińskiej-Polit pt. **Występowanie oraz charakterystyka promieniowców celulolitycznych i ksylanolitycznych w wybranych glebach łąkowych Polski** spełnia wymogi niezbędne dla uzyskania stopnia naukowego doktora, zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) obowiązującej dla ww. przewodu na podstawie 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), dotyczące ubiegania się o stopień naukowy doktora w dyscyplinie ochrona i kształtowanie środowiska znajdującej się obecnie w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka. W związku z powyższym, stawiam wniosek o przeprowadzenie przez Radę Naukową Instytutu Technologiczno-Przyrodniczego – PIB w Falentach dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

prof. dr hab. inż. Andrzej Nowak



