

Prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz  
Katedra Mikrobiologii, Instytut Biologii  
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Lwowska 1, 87-100 Toruń  
Tel. +48 (56) 611-25-40  
E-mail: [hrynk@umk.pl](mailto:hrynk@umk.pl)

Toruń 15.11.2024

#### **Podstawa formalna opinii**

Opinia została sporządzona dla Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie w przewodzie doktorskim w dyscyplinie naukowej ochrona i kształtowanie środowiska, zgodnie z decyzją podjętą na posiedzeniu w dniu 28 października 2024 r.

#### **RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**mgr. inż. Piotra Niezgody**

**p.t. „Badania możliwości wykorzystania arbuskularnych grzybów mykoryzowych (gromada Glomeromycota) w ochronie ekosystemów wydmych Peloponezu i arbuskularne grzyby mykoryzowe innych stanowisk”**

w przewodzie doktorskim  
w dyscyplinie naukowej ochrona i kształtowanie środowiska

Recenzja została przygotowana w oparciu o przepisy ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) i rozporządzenie wydane do powyższej ustawy oraz w oparciu o opinię i stanowisko recenzenta w sprawie dopuszczenia mgr. inż. Piotra Niezgody do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

## 1. Opis ogólny

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr. inż. Piotra Niezgody została napisana pod kierunkiem promotora: prof. dr hab. Inż. Janusza Błaszczewskiego w Pracowni Ochrony Roślin (Katedra Kształtowania Środowiska) Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie (Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa).

Struktura pracy jest zgodna z ogólnymi zasadami i wymogami stawianymi rozprawom doktorskim i składa się z dziewięciu spójnych tematycznie prac naukowych opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych, które ukazały się w latach 2018-2022:

(P-1) Nova Hedwigia (doi: 10.1127/nova\_hedwigia/2018/0488) [IF- 1,254; MNiSW – 40],

(P-2) Botany (dx.doi.org/10.1139/cjb-2018-0107) [IF- 1,568; MNiSW – 70],

(P-3) Mycological Progress (doi.org/10.1007/s11557-018-01462-2) [IF- 2,713; MNiSW – 70],

(P-4) Mycologia (doi: 10.1080/00275514.2019.1654637) [IF- 3,325; MNiSW – 100],

(P-5) Mycological Progress (doi.org/10.1007/s11557-019-01534-x) [IF- 2,713; MNiSW – 70],

(P-6) Frontiers in Microbiology (10.3389/fmicb.2021.655910) [IF- 6,064; MNiSW – 100],

(P-7) Mycological Progress (doi: 10.1007/s11557-021-01726-4) [IF- 2,713; MNiSW – 70],

(P-8) Mycologia (doi:10.1080/00275514.2022.2030081) [IF- 3,325; MNiSW – 100],

(P-9) Frontiers in Microbiology (doi:10.3389/fmicb.2022.962856) [IF- 6,064; MNiSW – 100].

W publikacjach tych Doktorant jest drugim (P-2, P-4, P-5, P-7, P-8) lub trzecim autorem (P-1, P-3, P-6, P-9). Jak wskazano w oświadczeniach, we wszystkich tych pracach pełnił wiodącą rolę, uczestnicząc m.in. we współtworzeniu koncepcji badań i hipotez badawczych, wyborze metodyki badań, przygotowaniu materiału do badań, wykonaniu badań molekularnych i części badań filogenetycznych, opracowaniu wyników, współtworzeniu manuskryptów, korekcie manuskryptów po recenzji. Stosowne oświadczenia Doktoranta i pozostałych współautorów publikacji zostały przygotowane dla każdej z dziewięciu publikacji i stanowią część rozprawy doktorskiej. Zawarte w oświadczeniach opisy zadań, w których Doktorant uczestniczył potwierdzają jego duży wkład na wszystkich etapach współtworzenia publikacji. Liczba prac stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej w temacie naukowym jest znacząca i potwierdza istotny wkład Doktoranta w rozwój dyscypliny naukowej. W publikacjach planowanych w przyszłości sugeruję rozważenie przez Doktoranta możliwości występowania jako pierwszego współautora pracy, jeżeli oczywiście wkład włożony w powstanie pracy będzie na to wskazywał i umożliwiał.

W skład rozprawy doktorskiej, poza wymienionymi powyżej publikacjami naukowymi, wchodzi dodatkowo takie rozdziały jak: Streszczenie (w języku polskim i angielskim), Wstęp, Wykaz publikacji, Materiał i metody, Omówienie wyników badań, Możliwości wykorzystania **arbuskularnych grzybów mykoryzowych (AGM)** w ochronie roślin i wydm Peloponezu, Wnioski i Literatura. Liczba i dobór pozycji literaturowych (70 pozycji) wykorzystanych do napisania powyższych rozdziałów jest prawidłowy. Zauważam jednak bardzo mało odniesień do najnowszej literatury.

## 2. Znaczenie i aktualność zagadnień zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej

Symbioza mykoryzowa między roślinami i grzybami ma kluczowe znaczenie dla struktury gleby, obiegu składników odżywczych, różnorodności roślin i zrównoważonego rozwoju ekosystemów. Ponad 250 000 gatunków roślin jest powiązanych z grzybami mykoryzowymi. Ogromny postęp w możliwościach wykorzystania analiz molekularnych sprawił, że znanych jest obecnie ponad 250 genomów grzybów mykoryzowych i setki genów, które odgrywają kluczową rolę w regulacji rozwoju symbiozy i metabolizmu (Martin i in., 2024).

Znanych jest obecnie 7 typów mykoryz, które wyodrębnione zostały na podstawie ich cech morfologicznych i anatomicznych, gatunków grzybów mykoryzowych i gatunków roślin, przy czym mykoryzy arbuskularne uważane są za najbardziej znany typ mykoryzy w przyrodzie. Występują u około 72% roślin lądowych i odgrywają ważną rolę w ryzosferze roślin. AGM urzekają biologów ewolucyjnych ze względu na ich historyczne pochodzenie, które sięga około 500 milionów lat (Brundrett i Tedersoo, 2018). Ich długa historia ewolucyjna i charakterystyczne cechy biologiczne sprawiają, że są fascynującym przedmiotem badań. Rośliny wykształciły kompletny system symbiozy roślina-AGM, aby utrzymać swój wzrost i rozwój w różnych rodzajach stresu abiotycznego. Główną rolą symbiozy mykoryzowej jest ochrona gospodarza roślinnego poprzez m.in. zwiększanie odporności na suszę, wzrost pobierania mineralnych składników odżywczych, regulację syntezy hormonów, poprawę odporności na zasolenie i łagodzenie stresu związanego z występowaniem metali ciężkich. Badania prowadzone nad symbiozą AGM i różnymi stresami abiotycznymi mogą znacznie zwiększyć szanse na ich zastosowanie w zrównoważonym rolnictwie oraz poprawić produkcję roślinną i bezpieczeństwo środowiskowe.

Pomimo że badania nad AGM prowadzone są w wielu ośrodkach na całym świecie, to stanowią wciąż wielkie wyzwanie dla naukowców, chociażby ze względu na ich złożoną procedurę namnażania w warunkach laboratoryjnych, trudniejszy metodologicznie sposób identyfikacji i klasyfikacji systematycznej oraz ograniczone możliwości oznaczania ich bioróżnorodności metodami metagenomowymi, ze względu na wciąż niewielkie zasoby sekwencji AGM w dostępnych bazach danych. Gromada Glomeromycota, do której należą AGM, obejmuje jedną klasę, sześć rzędów, 17 rodzin, 50 rodzajów oraz znaczną grupę taksonów, których filogeneza jest wciąż nieznana lub niepewna. Nowe, poparte badaniami dane na temat występowania, rozmieszczenia funkcjonalnego i statusu taksonomicznego AGM są niezbędnym elementem poszerzenia tej wiedzy. Właśnie dlatego podjęte przez Doktoranta szeroko zakrojone i oparte na wnikliwej charakterystyce właściwości morfologicznych i molekularnych AGM są niezwykle cenne dla rozwoju dalszych badań nad tą szczególnie ważną z punktu widzenia aplikacyjnego (np. w rolnictwie) oraz obserwowanych zmian klimatu grupą grzybów mykoryzowych.

Wstęp pracy doktorskiej rozpoczyna się trzema prawidłowo postawionymi przez Doktoranta hipotezami badawczymi oraz opisem czterech celów szczegółowych, które zostały w dalszej części pracy uzasadnione. Doktorant w swojej pracy podjął się m.in.: (i) morfologicznej i molekularnej charakterystyki AGM występujących na stanowiskach wydmywanych Półwyspu Peloponeskiego w Grecji, (ii) określenia pozycji systematycznej 7 AGM (*Acaulospora polonica*, *Entrophospora infrequens*, *Glomus diaphanum*, *G. drummondii*, *G. pansihalos*, *G. tortuosum* i *G. walkeri*) w gromadzie Glomeromycota, (iii) weryfikacji i uzupełnienia opisów i pozycji systematycznej gatunków AGM zebranych przez siebie oraz utrzymywanych w kolekcji promotora, (iv) scharakteryzowania nowych gatunków AGM.

### 3. Najważniejsze wyniki pracy doktorskiej przedstawione w publikacjach naukowych i ich znaczenie

Do najważniejszych osiągnięć zaprezentowanych w pracy doktorskiej Pana P. Niezgody zaliczam:

- 1) Scharakteryzowanie występowania i różnorodności zbiorowisk zarodników AGM na obszarach wydmych Peloponezu w oparciu o wykonane kultury pułpkowe inokulowane glebą ryzosferową i fragmentami korzeni pięciu gatunków roślin powszechnie występujących na tych stanowiskach. Wśród 38 scharakteryzowanych gatunków, zidentyfikowano 17 nowych gatunków i 18 morfotypów, które należą najprawdopodobniej do nieopisanych jak dotąd taksonów. Do gatunków AGM, które obserwowano najczęściej należały: *Septoglomus constrictum* (80,42%) i *Diversispora epigaea* (53,33%). Na podstawie występowania i wytwarzania zarodników Doktorant wytypował *S. constrictum* jako gatunek AGM, który samodzielnie lub w koinokulacji z innymi zidentyfikowanymi AGM (*Acaulospora kentinensis*, *Archaeospora trappei*, *Diversispora aurantia*, *D. epigaea*, *Dominikia aurea*, *Glomus macrocarpum*, *Innospora majewskii* i *Rhizoglomus irregulare*) można zastosować do ochrony roślin i wydmy Peloponezu.
- 2) Opisanie nowego rzędu, nowej rodziny, sześciu nowych rodzajów i 15 nowych gatunków należących do Glomeromycota oraz utworzenie 13 nowych kombinacji w Glomeromycota.
- 3) Objęcie badaniami wielu stanowisk zlokalizowanych w różnych krajach na świecie, przez co zaprezentowane badania mają charakter globalny.

Praca doktorska mgr. inż. P. Niezgody stanowi zbiór oryginalnych i spójnych tematycznie prac przedstawiających nową i przydatną wiedzę z zakresu AGM występujących na stanowiskach wydmych Peloponezu oraz w innych obszarach środowiskowych w Polsce i na świecie. Doświadczenia, które przeprowadzono w oparciu o hodowle kultur pułpkowych, mikroskopową identyfikację i charakterystykę zarodników AGM oraz analizę filogenetyczną AMF na podstawie sekwencji regionu SSU-ITS-LSU nrDNA i genu RPB1 oraz sekwencji SSU ITS-LSU plus RPB1, przedstawiają dobrze zaprezentowany zestaw wyników badań, które w publikacjach naukowych (stanowiących część pracy doktorskiej) zostały przeanalizowane i omówione na podstawie literatury naukowej. Rozprawa doktorska została poprawnie napisana pod względem redakcyjnym.

### 4. Uwagi

Etap przygotowywania i pisanie rozprawy doktorskiej to pierwszy krok młodego naukowca na jego drodze do dalszej kariery naukowej. Na tym etapie mogą pojawiać się pewne niedociągnięcia, które z pewnością w przyszłości zostaną wyeliminowane. Dlatego też sugestie, które wymieniam poniżej mają na celu zwrócenie Doktorantowi uwagi na nieco słabsze strony pracy doktorskiej, tak aby mógł udoskonalić w przyszłości swój warsztat badawczo-naukowy i z sukcesem osiągać kolejne, niezwykle ważne cele naukowe.

- (1) Wniosek nr 1 wymaga w mojej opinii przeredagowania ponieważ jest mało czytelny dla odbiorcy i nie pozwala precyzyjnie stwierdzić ile nowych gatunków, rodzajów i morfotypów zostało po raz pierwszy scharakteryzowanych w ramach pracy doktorskiej.
- (2) Niefortunne jest również sformułowanie we wniosku nr 3 - „wyraźniej najobficiej zarodnikującym” oraz „było” - w odniesieniu do gatunku *Septoglomus constrictum*.
- (3) W spisie literatury zamieszczonej w pracy doktorskiej uwzględniono jedynie 10 pozycji literaturowych opublikowanych w ostatnich pięciu latach (na 70 łącznie). Podobną tendencję można zaobserwować również w publikacjach stanowiących część rozprawy doktorskiej. Zdaję sobie sprawę z unikalności przeprowadzonych w pracy doktorskiej badań i konieczności cytowania starszych pozycji literaturowych, jednakże w części stanowiącej wprowadzenie lub opis możliwości wykorzystania AGM w ochronie roślin można w mojej opinii odnieść się do bardziej aktualnej literatury naukowej. Przegląd literatury i opieranie opisów uzyskanych wyników o możliwie najnowsze dane znacznie podnosi aktualność i rangę prowadzonych badań.

#### Sugestie

- (4) Do doświadczeń opartych na kulturach pułapkowych prowadzonych w laboratorium stosowano glebę ryzosferową pochodzącą z naturalnych stanowisk badawczych, gdzie pobierano próby do analiz. Warto w mojej opinii zastosować analizy metagenomowe, które pozwoliłyby na oznaczenie bioróżnorodności AGM w materiale zastosowanym do inokulacji i zweryfikowanie po przeprowadzonym doświadczeniu jakie gatunki wytworzyły ostatecznie mykoryzę na korzeniach roślin zastosowanych do badań.

#### Drobne uchybienia edytorskie:

- (5) W streszczeniu pracy doktorskiej znajdują się opisy gatunków w języku łacińskim, w których nie jest stosowana kursywa (str. 5).
- (6) W pracy można spotkać pewne nieprawidłowości związane ze stosowaniem skrótów nazw łacińskich, np. po zastosowaniu pełnej nazwy łacińskiej po raz pierwszy w kolejnym opisie używa się co do zasady skrótu, tymczasem w pracy reguła ta nie zawsze jest stosowana, np. str. 22, 23, 33, 41.
- (7) Powinno być „klady” zamiast „kłady” – str. 27, 28, 37.
- (8) Styl zdania, np.: „Słabości danych sekwencyjny omówione ...” (str.10), „Przynajmniej częściowe oczyszczenie dostępnych danych ...” (str.10), „... były nijakie i bardzo słabe ...” (str. 19), „zdolności chronienia roślin ...” (str. 40).

### 1. Wnioski

Podsumowując, rozprawa doktorska mgr. inż. Piotra Niezgody przedstawia dobrze zaprezentowane wyniki badań naukowych, które zostały opublikowane w dziewięciu publikacjach naukowych. Liczba moich uwag nie wpływa na bardzo dobrą ocenę pracy. Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w

zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789), uwzględniając rozporządzenie MNiSW z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim (Dz.U. z 2018 r. poz. 261), zgodnie z art.,179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669). W związku z powyższym, wnioskuję do Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz

Handwritten signature of Prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz in blue ink.