

Dr hab. Jolanta Joniec, prof. UP
Katedra Mikrobiologii Środowiskowej
Wydział Agrobiotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Leszczyńskiego 7
20-069 Lublin

Lublin, dn. 03.11.2022 r.

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej magistra Mateusza Męcika

**pt.: „WPLYW FOSFOROWEGO NAWOZU MINERALNEGO WZBOGACONEGO
MIKROBIOLOGICZNIE NA AKTYWNOŚĆ I BIORÓŻNORODNOŚĆ
MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH”**

**wykonanej pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Magdaleny Frąc
oraz promotora pomocniczego dr Agaty Gryty**

1. Podstawa opracowania recenzji

Recenzja została opracowana w odpowiedzi na pismo Dyrektora Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie prof. dr hab. Cezarego Sławińskiego, w sprawie uchwały Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki z dnia 12 września 2022 roku. W piśmie zamieszczono informację o powołaniu mnie na funkcję recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora oraz prośbę o wykonanie recenzji ww. rozprawy doktorskiej.

Praca doktorska mgr Mateusza Męcika została wykonana w Instytucie Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Magdaleny Frąc oraz promotora pomocniczego dr Agaty Gryty. Badania do rozprawy doktorskiej zostały wykonane w ramach projektu "Opracowanie technologii innowacyjnych nawozów mineralnych wzbogaconych mikrobiologicznie" (BIO-FERTIL) (BIOSTRATEG3/347464/5/NCBR/2017) zrealizowanego w ramach strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych "Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo" - BIOSTRATEG, współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR).

2. Zasadność podjęcia badań

Zaprezentowane w przedłożonej rozprawie doktorskiej badania, dotyczą bardzo ważnej dzisiaj tematyki jaką jest rolnictwo ekologiczne. Obserwowany obecnie ciągły wzrost liczby ludności stawia przed rolnictwem nowe wyzwania. Zaspokajanie potrzeb żywieniowych

światowej populacji pociąga za sobą intensyfikację działalności rolniczej, w postaci nadmiernego stosowania nawozów mineralnych i środków ochrony roślin. Silna antropopresja związana z chemizacją rolnictwa powoduje szereg negatywnych zmian w środowisku naturalnym. Zmiany te dotyczą wszystkich jego komponentów tj.: gleb, wód oraz powietrza, a w konsekwencji mogą niejednokrotnie zagrażać organizmom żywym. Nadmierna, nieprzemyślana aplikacja agrochemikaliów negatywnie wpływa na glebę poprzez zmiany jej struktury, spadek żyzności i zdolności zatrzymywania wody. W konsekwencji dochodzi do pogorszenia się kondycji uprawianych roślin a następnie do zwiększenia podatności upraw na różne choroby co generuje kolejne działania związane ze stosowaniem środków ochrony roślin. Wymywanie z gleb, dostarczanych w nadmiarze biogenów skutkuje eutrofizacją wód. Obserwuje się również wzmożoną emisję gazów cieplarnianych oraz wzrost toksyczności spowodowany gromadzeniem się metali ciężkich, takich jak arsen, kadm czy ołów. Należy podkreślić, że szczególnie narażone na negatywne skutki są gleby ponieważ do nich bezpośrednio aplikowane są nawozy mineralne. Degradacja fizyczna i chemiczna środowiska glebowego oddziałuje destrukcyjnie na jego życie biologiczne w tym na populacje bakterii i grzybów je zasiedlających. Powszechnie wiadomo, że mikroorganizmy glebowe są podstawą funkcjonowania agroekosystemów. Są m.in. odpowiedzialne za cykle biogeochemiczne związane z krążeniem biogenów, a więc ich uprzystępnianiem roślinom, biorą udział w powstawaniu humusu i wpływają na kondycje roślin. Pełnienie tak różnorodnych i ważnych funkcji jest możliwe dzięki ich bioróżnorodności. W glebach poddanych nadmiernej chemizacji dochodzi do zaburzenia homeostazy wynikającej z bioróżnorodności mikroorganizmów a to znajduje negatywne skutki w postaci spadku wielkości i jakości plonu uprawianej rośliny. Mikroorganizmy glebowe posiadają szereg uzdolnień adaptacyjnych do wciąż zmieniających się warunków bardzo heterogenicznego środowiska glebowego, które przy okazji pozytywnie wpływają na uprawiane rośliny. Mechanizmy adaptacyjne polegają m.in. na: syntezie antybiotyków, formowaniu biofilmu, wiązaniu azotu atmosferycznego, uprzystępnianiu składników mineralnych z trudnorozkładalnych związków, syntezie stymulatorów wzrostu roślin czy detoksykacji zanieczyszczeń. Uruchamianie tych mechanizmów wynika z bardzo dużej wrażliwości bakterii i grzybów glebowych na zmiany zachodzące w glebie. Dlatego aktywność i różnorodność mikroorganizmów glebowych uważane są słusznie za bardzo czułe i wiarygodne bioindykatory stanu gleb. W dobie, bardzo silnej presji jaką wywiera na rolnictwo ciągły wzrost zapotrzebowania na żywność, ale również w trosce o stan środowiska istotne jest poszukiwanie nowych rozwiązań, które pozwolą na utrzymanie wysokiego poziomu produkcji rolnej z jednoczesnym wzmocnieniem

bioróżnorodności gleb. Alternatywą dla nadmiernego korzystania z nawozów sztucznych i chemicznych środków ochrony roślin są bionawozy, których podstawą są mikroorganizmy. Wykorzystanie bakterii i grzybów do produkcji bionawozów wynika z ich zdolności do kształtowania wielkości i jakości plonu jak również oddziaływania na zdrowotność gleb. W związku z powyższym uważam, że podjęta przez Pana magistra Mateusza Mąćika tematyka badawcza dotycząca oddziaływania innowacyjnego bionawozu fosforowego na aktywność i bioróżnorodność drobnoustrojów glebowych jest bardzo trafna i niezwykle cenna zarówno z poznawczego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Tematyka ta w pełni wpisuje się w obecny nurt poszukiwania rozwiązań problemów z którymi boryka się dzisiejsze rolnictwo.

3. Ocena formalna rozprawy

Podstawę rozprawy doktorskiej stanowi cykl trzech spójnych tematycznie publikacji:

1. **Mąćik M.**, Gryta A., Frąc M., 2020. Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. *Advances in Agronomy*, 162, 31-87. IF: 6,919.
2. **Mąćik M.**, Gryta A., Sas-Paszt L., Frąc M., 2020. The Status of Soil Microbiome as Affected by the Application of Phosphorus Biofertilizer: Fertilizer Enriched with Beneficial Bacterial Strains. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 8003. IF: 5,924; punktacja MNiSW: 140 punktów.
3. **Mąćik M.**, Gryta A., Sas-Paszt L., Frąc M., 2022. Composition, activity and diversity of bacterial and fungal communities responses to inputs of phosphorus fertilizer enriched with beneficial microbes in Brunic Arenosol degraded soil. *Land Degradation and Development*, 33(6), 844-865. IF: 4,377; punktacja MNiSW: 200 punktów.

Przedstawienie rozprawy doktorskiej w oparciu o trzy opublikowane prace jest jak najbardziej zasadne i zgodne z Ustawą z dnia 3 lipca 2018 roku – przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce Dz. U. z 2018 r., poz. 1669, Art. 187, pkt 3 mówiące że: „Rozprawę doktorską może stanowić praca pisemna, w tym monografia naukowa, zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, praca projektowa, konstrukcyjna, technologiczna, wdrożeniowa lub artystyczna, a także samodzielna i wyodrębniona część pracy zbiorowej”. Suma punktów za ww. publikacje według MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 340, a sumaryczny wskaźnik Impact Factor: 17,22. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w renomowanych czasopismach posiadających wysoki IF. Treść tych trzech artykułów została zamieszczona w rozprawie doktorskiej w rozdziałach 6-8. Wszystkie publikacje są współautorskie, dlatego w rozdziale 11 zamieszczono oświadczenia autorów w tym Doktoranta z których wynika, że

Jego wkład w ich powstanie był bardzo znaczący. W wymienionych publikacjach Pan magister Mateusz Mącik jest pierwszym autorem co wynika z tego, że był zaangażowany na wszystkich etapach powstawania publikacji tj.: począwszy od opracowania koncepcji badań poprzez zakładanie doświadczenia, pobór prób, wykonywania analiz, opracowanie wyników, przygotowywanie manuskryptu czy udzielanie odpowiedzi na recenzje. W związku z tym znaczący udział Doktoranta w powstawaniu tych publikacji nie budzi zastrzeżeń.

Celem uzupełnienia wyników badań zaprezentowanych w ww. publikacjach, w rozprawie doktorskiej uwzględniono dodatkowe wyniki dotyczące analizy zmian sezonowych w bioróżnorodności mikrobiomu i mykobiomu glebowego. Są one trafnie powiązane tematycznie z wynikami zamieszczonymi w publikacjach. Wyniki te ujęto w formie manuskryptu pt.: „New insight into the soil bacterial and fungal microbiome after phosphorus biofertilizer application as important driver of regenerative agriculture including biodiversity loss reversing and soil health restoration” autorstwa **Mącik M.**, Gryta A., Sas-Paszt L., Frąć M. Treść manuskryptu została zamieszczona w rozdziale 11. Z oświadczeń wszystkich autorów ujętych w rozdziale 11 wynika, że podobnie jak w przypadku publikacji udział Doktoranta w jego powstawaniu był znaczący.

Rozprawa doktorska składa się z poszczególnych wyraźnie wyodrębnionych rozdziałów i podrozdziałów, których układ tworzy spójną, logiczną całość. Na początku zamieszczono streszczenie w języku polskim i angielskim, a następnie listę publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. W rozdziale „**Wprowadzenie**” Doktorant przybliżył problematykę której dotyczy rozprawa, opisał znaczenie fosforu oraz naświetlił kwestie stosowania bionawozów w kontekście zmian klimatu. Rozdział ten powstał w oparciu o starannie dobraną najnowszą literaturę.

W rozdziale 2 „**Hipoteza badawcza i cele rozprawy doktorskiej**” Autor sformułował hipotezę badawczą oraz przedstawił główny cel pracy i wyodrębnił cztery cele szczegółowe. W rozdziale 3 „**Materiały i Metody**” zamieszczony został opis modeli doświadczalnych, sposób zakładania doświadczeń, charakterystyka gleb, sposób poboru prób, opis wszystkich wykonywanych analiz z podaniem danych literaturowych dotyczących metody oraz opis zastosowanych do analizy otrzymanych wyników metod statystycznych i bioinformatycznych. Kolejny rozdział pt. „**Omówienie wyników przedstawionych w publikacjach i badaniach uzupełniających**” zawiera syntetyczny opis wyników, zamieszczonych w stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej publikacjach. Ponadto w podrozdziale 4.4. Doktorant scharakteryzował badania uzupełniające uwzględniając wstęp, opis otrzymanych wyników, które zaprezentował w formie 10 rysunków oraz dyskusję w

oparciu o najnowszą literaturę. W rozdziale „**Podsumowanie i wnioski**” Doktorant podkreślił zasadność podjętych badań i sformułował 10 trafnych i interesujących wniosków, które stanowią zwięzłą syntezę wniosków zamieszczonych w publikacjach i manuskrypcie badań uzupełniających. W rozdziałach 6-9 znajduje się tekst trzech publikacji i manuskryptu. Oświadczenia o udziale poszczególnych współautorów w ich powstawaniu uwzględniono w rozdziale „**Oświadczenia**”. Rozdział 10 „**Bibliografia**” zawiera wykaz literatury zacytowanej w publikacjach i manuskrypcie. Składa się na niego 151 pozycji anglojęzycznej literatury. W ostatnim rozdziale „**Aneks – życiorys naukowy**” Doktorant zamieścił informacje dotyczące: swojego wykształcenia, udziału w konferencjach krajowych i międzynarodowych, otrzymanych wyróżnień oraz udziału w projektach.

Przedłożona rozprawa doktorska w mojej ocenie jest kompletna, a jej układ jest spójny i prawidłowy.

4. Ocena merytoryczna rozprawy

Składające się na rozprawę doktorską trzy publikacje oraz badania uzupełniające w formie manuskryptu dotyczą badań prowadzonych na tym samym materiale badawczym pochodzącym z tych samych dwóch obiektów badawczych. Szeroko zakrojone badania mają charakter wieloaspektowy i dotyczą tej samej tematyki tj. mikrobiomu i mykobiomu gleb nawożonych preparatem fosforowym. W związku z tym badania te stanowią powiązany tematycznie zbiór prac stanowiący spójną, logiczną całość. Hipoteza badawcza została jasno i precyzyjnie sformułowana. Zakłada ona, że fosforowy nawóz mineralny wzbogacony mikrobiologicznie pozytywnie wpływa na mikrobiom i mykobiom gleb zdegradowanych. W drugiej części hipotezy Autor zawarł cenny i interesujący aspekt nowatorski, zakładając że nawóz ten może być uzupełnieniem lub nawet alternatywą dla tradycyjnych nawozów mineralnych. Celem rozprawy doktorskiej Pana magistra Mateusza Mącika było zbadanie wpływu innowacyjnego fosforowego nawozu mineralnego, wzbogaconego mikrobiologicznie, na aktywność i różnorodność funkcjonalną i genetyczną zbiorowisk mikroorganizmów zasiedlających gleby zdegradowane. Tak sformułowany cel w pełni koresponduje z tematem rozprawy doktorskiej. Cel nadrzędny został zrealizowany poprzez realizację celów szczegółowych wytyczonych w poszczególnych publikacjach i w badaniach uzupełniających.

Publikacja P.1 jest pracą przeglądową, w której Doktorant zapoznaje czytelnika z problematyką dotyczącą stosowania bionawozów. W interesujący i wyczerpujący sposób Autor przedstawia koncepcje i strategie wykorzystania bionawozów we współczesnym

rolnictwie. Zwraca uwagę na możliwość stosowania tego typu nawozów jako zamienników lub suplementów nawozów tradycyjnych. Dokonana została ponadto ich charakterystyka i klasyfikacja. Autor przybliży również najbardziej popularne techniki wykorzystywane w monitoringu środowiska glebowego pod kątem zmian w populacjach mikroorganizmów.

Badania zaprezentowane w rozprawie doktorskiej w Publikacja P.2, P.3 oraz w Manuskrypcie badań uzupełniających P.4 zostały przemyślane i starannie zaplanowane. Uwzględniono w nich prace terenowe, prace laboratoryjne i opracowanie (w tym obszerne statystyczne i bioinformatyczne) uzyskanych wyników. Badania zostały przeprowadzone na materiale glebowym pochodzącym z dwóch doświadczeń polowych. Polowy charakter badań stanowi dodatkowy ich atut, ponieważ w przeciwieństwie do badań laboratoryjnych, uwzględnia ogół czynników jakie wpływają na glebę, a w konsekwencji kształtując to środowisko oddziałują również na zasiedlające je populacje mikroorganizmów. Doświadczenia prowadzono w latach 2018-2019 na dwóch różnych typach gleb, pod uprawą kukurydzy, zdegradowanych chemicznie. Pierwsza gleba została sklasyfikowana jako bielicowa wytworzona z piasku słabogliniastego (Brunic Aerosol – BA) zdegradowana nieprawidłową uprawą i nawożeniem, a druga to gleba bielicowa wytworzona z pyłu (Abruptic Luvisol - AL) zdegradowana na skutek działalności byłej kopalni siarki. Do obu gleb wprowadzono innowacyjny nawóz fosforowy w trzech wariantach: dawkę optymalną bez wzbogacenia mikrobiologicznego (FC), dawkę optymalną wzbogaconą mikrobiologicznie (FA100) i dawkę zredukowaną o 40% zawierającą mikroorganizmy (FA60). W ramach badań zaprezentowanych w publikacjach P.2 i P.3 oraz w manuskrypcie Doktorant określił: aktywność wybranych enzymów glebowych, różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów glebowych na podstawie profilu metabolicznego zbiorowisk mikroorganizmów przy zastosowaniu płytek metabolicznych BIOLOGTM (ECO i FF), różnorodności genetycznej zbiorowisk bakterii, archeonów oraz grzybów na podstawie analizy polimorfizmu długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych (t-RFLP) oraz dokonał analizy metataksonomicznej, z zastosowaniem sekwencjonowania następnej generacji (NGS), zbiorowisk bakterii i grzybów. W celu określenia natychmiastowej reakcji mikroorganizmów glebowych na aplikację nawozu jak również zmian sezonowych, ww. parametry analizowane były przed aplikacją nawozu (wiosna), tuż po aplikacji (lato) oraz po zbiorze rośliny (jesień). Na uwagę zasługuje fakt doboru różnorodnych nowoczesnych metod badawczych, statystycznych i bioinformatycznych, które pozwoliły na uzyskanie bardzo obszernego i cennego materiału na podstawie którego Doktorant mógł dokonać nie jedynie fragmentarycznej, ale kompleksowej oceny wpływu nawozu fosforowego na mikrobiom i mykobiom badanych gleb. Tym samym

osiągnął zamierzony cel i potwierdził postawioną na początku badań hipotezę badawczą. Taki dobór metod badawczych jednoznacznie wskazuje, że Autor biegle opanował warsztat związany z najnowocześniejszymi metodami molekularnymi stosowanymi w tego typu badaniach.

Bardzo ważnym aspektem w mojej opinii jest również fakt, że Doktorant zamieszczone w rozprawie badania prezentuje w świetle licznej, trafnie i starannie dobranej pod kątem poruszanej problematyki, literatury o zasięgu światowym. Stanowi ją 151 pozycji, z których 127 tj. 84% ukazało się wciągu ostatnich dziesięciu lat.

Do najważniejszych osiągnięć przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej w mojej opinii należy wykazanie że:

- Nie stwierdzono negatywnego wpływu fosforowego bionawozu na zbiorowiska mikroorganizmów zasiedlających analizowane gleby.
- Obie zastosowane dawki bionawozu przynoszą wymierne korzyści wpływając na poprawę życia biologicznego w glebach zdegradowanych.
- Na różnorodność genetyczną i funkcjonalną zbiorowisk mikroorganizmów ma wpływ nie tylko sposób nawożenia, ale również termin poboru prób.
- Fosforowy bionawóz stymuluje występowanie mikroorganizmów wykazujących uzdolnienia w kierunku wzrostu i rozwoju roślin oraz poprawy jakości gleb zdegradowanych.
- Fosforowy nawóz mineralny jest efektywnym środkiem do poprawy parametrów mikrobiologicznych gleb zdegradowanych i może być wykorzystywany w zrównoważonym rolnictwie.

Uwagi o charakterze dyskusyjnym

Z uwagi na to, że stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej trzy publikacje były już przedmiotem oceny przez recenzentów i wydawców, moje uwagi dotyczą niepublikowanego jeszcze manuskryptu badań uzupełniających oraz całości przedłożonego do recenzji opracowania:

- W rozprawie doktorskiej zostały, w mojej opinii niepotrzebnie, dwukrotnie zamieszczone w formie 10 rysunków, wyniki dotyczące badań uzupełniających. Doktorant zaprezentował je po raz pierwszy w rozdziale 4.4. przy omawianiu badań uzupełniających i ponownie w rozdziale 9 gdzie zamieścił tekst manuskrypt ww. badań.

- Doktorant w rozdziale 5 dokonał wprawdzie podsumowania i wyciągnął interesujące wnioski, jednak brakuje według mnie wyraźnego podkreślenia, które osiągnięcie uważa za najistotniejsze. Proponuję odnieść się do tej uwagi w trakcie obrony i uzasadnić swoją wypowiedź.
- Badania zaprezentowane w rozprawie doktorskiej dotyczyły gleb zdegradowanych. Autor wspomina wprawdzie o negatywnym wpływie chemizacji rolnictwa na środowisko glebowe, jednak zjawisko degradacji gleb jest zjawiskiem wielowątkowym. W tym kontekście, w trakcie przygotowywania wyników badań uzupełniających do druku, zasadnym wydaje się pogłębienie tego tematu o informacje dotyczące skali problemu, przyczyn, zabiegów naprawczych czy przykładów wykorzystania mikroorganizmów w monitoringu gleb zdegradowanych czy rekultywowanych.
- Rysunek 2 zamieszczony w manuskrypcie jest nieczytelny w obecnej formie.

Zamieszczone powyżej uwagi mają jedynie charakter dyskusyjny i nie podważają wysokiej wartości naukowej przedłożonej rozprawy doktorskiej i nie wpływają na moją bardzo pozytywną jej ocenę. Po zapoznaniu się z jej treścią stwierdzam, że Pan magister Mateusz Mącik wykazał się doskonałą znajomością warsztatu metodycznego i laboratoryjnego. Posiada umiejętność analizowania i interpretacji wyników o czym świadczy opublikowanie ich w renomowanych czasopismach. Opiniowana rozprawa zawiera bardzo wartościowy tj. oryginalny i nowatorski materiał badawczy o dużej wartości poznawczej i aplikacyjnej. W mojej opinii stanowi ona oryginalny, twórczy wkład Autora w wiedzę z zakresu dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo i zasługuje na wyróżnienie stosowną nagrodą przez władze Instytutu Agrofizyki.

5. Wniosek końcowy

Reasumując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana magistra Mateusza Mącika pt.: „*Wpływ fosforowego nawozu mineralnego wzbogaconego mikrobiologicznie na aktywność i bioróżnorodność mikroorganizmów glebowych*” spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.).

W związku z powyższym składam wniosek do Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie o przyjęcie przedłożonej rozprawy doktorskiej

i dopuszczenie Pana magistra Mateusza Męcika do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną i aplikacyjną przedłożonej do oceny rozprawy, wnioskuję do Wysokiej Rady o **wyróżnienie** opiniowanej pracy.

Lublin, dnia 03.11.2022r.

dr hab. Jolanta Joniec, prof. UP