

Puławy, dn. 21.06.2019 r.

dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB

Zakład Mikrobiologii Rolniczej

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Marka Wójcika pt.

**„Zastosowanie ryzobiów do wspomaganie wzrostu roślin bobowatych na glebach
skażonych jonami metali ciężkich”**

Przedłożona do oceny praca doktorska mgr Marka Wójcika została wykonana w Zakładzie Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie pod kierunkiem dr hab. Jerzego Wielbo, prof. UMCS. Recenzję rozprawy doktorskiej mgr Marka Wójcika przygotowano na prośbę Dziekana Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie – Skłodowskiej w Lublinie, Pana prof. dr hab. Kazimierza Trębacza.

1. Uwagi ogólne i znaczenie podjętej tematyki badań.

Problematyka omawianej rozprawy doktorskiej dotyczy bardzo aktualnej tematyki zanieczyszczenia gleb pierwiastkami śladowymi oraz zastosowania bakterii z rodzaju *Rhizobium* w celu wspomaganie wzrostu roślin bobowatych na glebach skażonych jonami tych pierwiastków, a w szczególności jonami cynku, ołowiu i kadmu.

Naturalny obieg pierwiastków śladowych w przyrodzie podlega różnego rodzaju zniekształceniom pod wpływem chemicznego zanieczyszczenia środowiska w wyniku gospodarczej i technicznej działalności człowieka. Stąd też w odróżnieniu od powietrza lub wód proces oczyszczania gleb jest bardzo wolny a zarazem kosztochłonny. Szczególnie niebezpieczne dla organizmów żywych są zanieczyszczenia gleb pierwiastkami śladowymi (liczba atomowa >20 lub gęstości ponad 5g/cm^3 o wyższym od glinu potencjale normalnym). Ważny jest tu oczywiście rodzaj emisji i jej natężenie oraz depozycja w glebie, ale również należy brać pod uwagę sposób użytkowania przestrzeni wraz z jej naturalnymi

cechami, takimi jak rodzaj i właściwości gleb, czy też warunki klimatyczne oraz bioróżnorodność mikrobiologiczna środowiska glebowego.

Trwale zanieczyszczenia organiczne, w tym także pierwiastki śladowe, emitowane są do środowiska głównie ze źródeł antropogenicznych i charakteryzują się wysoką toksycznością, trwałością i zdolnością do bioakumulacji. Biologiczny rozkład substancji organicznych przez mikroorganizmy oraz ubytek obecnych w miejscu skażenia pierwiastków śladowych wykazujące często działanie synergistyczne, jest jednym z najefektywniejszych i najbezpieczniejszych sposobów usuwania ich ze środowiska a zarazem procesem długotrwałym i wieloetapowym. Zagrożenie takie widoczne jest szczególnie na glebach poddanych długoletniej i silnej antropopresji przemysłowej.

Poznanie i praktyczne wykorzystanie drobnoustrojów ryzosferowych stymulujących wzrost i plonowanie roślin (PGPR) coraz częściej odwołuje się do symultanicznego działania różnych ich grup. Jedną z takich kombinacji jest inokulacja roślin bobowatych bakteriami symbiotycznymi (*Rhizobium*). Stąd też zastosowanie ryzobiów do wspomagania wzrostu roślin bobowatych na glebach skażonych cynkiem, kadmem i ołowiem uważam za bardzo ciekawy i innowacyjny pomysł Doktoranta.

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 rekultywacji terenów skażonych uważam za bardzo cenne i potrzebne w dzisiejszym świecie. W ten nurt doskonale wpisuje się tematyka pracy doktorskiej mgr Marka Wójciak. Należy również dodać, że pomimo licznych publikacji na powyższy temat, metody badań dotyczące zastosowanie ryzobiów do fitoremediacji gleb skażonych pierwiastkami śladowymi wydają się być ciągle niedostateczne i słabo poznane, szczególnie w warunkach *in situ* tj. realnego zanieczyszczenia gleb pierwiastkami śladowymi. W powyższym kontekście problematyka ocenianej pracy doktorskiej **ma znaczenie użytkowe i praktyczne** ze względu na możliwości wdrażania osiągniętych wyników badań do praktyki. Godne podkreślenia jest to, iż otrzymane w niniejszej rozprawie badania zostały już opatentowane (zgłoszenie patentowe P.424967 (Urząd Patentowy RP, 20.03.2018)).

Recenzowana rozprawa doktorska opiera się zarówno na laboratoryjnych metodach podstawowych jak i metodykach doświadczalnych z udziałem roślin. Warte podkreślenia

jest również to, że w rozprawie jasno i profesjonalnie przedstawiono wyniki badań będące efektem bardzo rzetelnego poprowadzenia doświadczeń w kolejnych stopniach oceny wpływu bakterii z rodzaju *Rhizbium* na wspomaganie wzrostu roślin bobowatych w warunkach skażenia podłoża pierwiastkami śladowymi. Do nieco słabszych stron pracy zaliczam analizę statystyczną oraz opis dyskusji, do których odniosę się szczegółowo w kolejnej części recenzji.

Przedstawiona powyżej problematyka pracy dotyczy bardzo istotnych i aktualnych zagadnień związanych z ochroną środowiska glebowego, a w oparciu o uzyskane rezultaty bardzo wysoko oceniam istotność, trafność i aktualność podjętej tematyki badawczej.

2. Ocena formalna rozprawy doktorskiej

Opiniowana rozprawa doktorska ma postać monotematycznej dysertacji liczącej 109 stron, na których znajdują się: 23 rysunki, 40 tabel oraz 169 pozycji literaturowych. Składa się ona z klasycznych rozdziałów zgodnych ze schematem prac badawczych.

Rozprawa zbudowana jest z 8 rozdziałów zasadniczych, do których zaliczam: „**Wstęp**”, czyli przegląd literatury dokonany w trzech głównych podrozdziałach. Kolejnym rozdziałem jest rozdział „**Materiały i metody**”, następnie „**Cel pracy**”, „**Wyniki**” i „**Dyskusja**” oraz „**Literatura**”. Do rozdziałów uzupełniających pracę zaliczam dwa rozdziały znajdujące się na końcu dysertacji: streszczenie pracy w języku polskim oraz streszczenie pracy w języku angielskim. Ponadto na końcu dysertacji umieszczono także „**Spis ilustracji**” oraz „**Spis tabel**”.

W mojej ocenie Doktorant powinien także umieścić w pracy rozdział „**Wnioski**”, który podsumował by najważniejsze punkty osiągnięte w niniejszej dysertacji. Takie podsumowanie umieszczono w końcowej części Dyskusji, niemniej jednak nie wydzielono jej jako oddzielnej części. Treść całej pracy doktorskiej została dodatkowo podzielna na liczne podrozdziały wyodrębnione w „**Spisie treści**”, co nadaje pracy dużą przejrzystość i czytelność. Rozprawa doktorska Pana mgr Marka Wójcika ma również bogatą dokumentację graficzną w postaci 23 rysunków i 40 tabel, w większości zawierających szczegółowe wyniki poparte podstawową analizą statystyczną.

Układ omawianej pracy jest poprawny, czytelny i niebudzący większych zastrzeżeń. Ponadto poszczególne rozdziały i podrozdziały są ze sobą logicznie powiązane, stanowią

całość, co ułatwia śledzenie i merytoryczną ocenę uzyskanych wyników. Generalnie recenzowana rozprawa doktorska jest napisana językiem poprawnym stylistycznie, pozwalającym w łatwy sposób na dokładne śledzenie toku prowadzonych badań i rozwiązań naukowych. Praca nie jest jednak wolna od drobnych błędów i pomyłek redakcyjnych, które tylko częściowo przedstawiam poniżej:

- str. 6, jest Havlin J.L. i wsp., 2014, natomiast w spisie literatury jest rok 2013,
- str. 8 jest Kakraliya S.K. i wsp., 2018, natomiast w spisie literatury jest Kakraliya,
- str. 9 jest Pisarska i Pietr 2014, w spisie literatury jest rok 2001,
- str. 9 jest Natywa M. i wsp., 2013, w spisie literatury jest rok 2014,
- str. 10 jest Finan T.M. 2001, w spisie literatury jest rok 2020,
- str. 10 jest Finan T.M. i wsp., 2002, w spisie literatury jest rok 2001,
- str. 10 jest Stasiak G. i wsp., 2016, w spisie literatury brak roku,
- str. 13 jest Mergaert P. i wsp., 2006, spisie literatury jest 2003,
- str. 13 podpis pod rysunkiem Kakraliya S.K. i wsp., 2018, natomiast w spisie literatury jest Kakraliya,
- str. 15 jest „zapewniania”, powinno być „zapewnienia”,
- str. 15 i pozostałe strony w tekście jest „preparat czynników Nod”, powinno być „preparat zawierający czynniki Nod”,
- str. 22 jest Gramms G. i Voigt K.D., 2015; w spisie literatury jest Gramss,
- ponadto w tekście zauważyłam również drobne błędy literowe i interpunkcyjne, których tu nie wymieniam.

Wymienione powyżej drobne błędy redakcyjne nie mają jednak wpływu na prawidłowy i pozytywny odbiór rozprawy i nie są przeszkodą merytoryczną w zrozumieniu treści. Niemniej jednak w przyszłości podczas opracowywania wyników badań do publikacji powinny być poprawione, szczególnie jeśli dotyczy to poprawnego cytowania literatury naukowej.

3. Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Pierwszy rozdział pracy doktorskiej zatytułowany „Wstęp” liczy 21 stron i stanowi aktualny i rzetelnie przeprowadzony przegląd literatury poparty siedmioma rysunkami i jedną tabelą. Rozdział ten składa się z trzech podrozdziałów. W pierwszym podrozdziale Doktorant szczegółowo omawia tematykę symbiozy ryzobiów z roślinami bobowatymi

zwracając szczególną uwagę na takie aspekty jak: obieg azotu w przyrodzie, interakcje ryzobiów z roślinami bobowatymi oraz zastosowanie czynników Nod do zwiększenia efektywności symbiozy *Rhizobium*-roślina bobowata. W kolejnym podrozdziale Doktorant szczegółowo omawia wpływ pierwiastków śladowych na organizmy żywe opierając się na pozycjach literaturowych eksportów w tej dziedzinie m.in. szeroko uznanych opracowaniach prof. Kabaty-Pendias. Z tego miejsca w myśl za nauką Pani prof. Kabaty – Pendias sugerowałabym stosowanie w opracowaniach nazewnictwa „pierwiastki śladowe” w zamian za „metale ciężkie”. Niemniej jednak nazewnictwo „metale ciężkie” jest jak najbardziej powszechne w literaturze i nie stanowi merytorycznego błędu. W podrozdziale tym Doktorant szeroko omawia poziom zanieczyszczenia gleb pierwiastkami śladowymi oraz ich wpływ na rośliny i organizmy żywe, co umożliwia czytelnikowi dokładne poznanie i zrozumienie zasadności podjętego problemu badań. Kolejne podrozdziały dotyczą wpływu jonów kadmu, ołowiu i cynku na symbiozę ryzobia – rośliny bobowate oraz wykorzystania układów symbiotycznych *Rhizobium* – roślina bobowata w rekultywacji terenów zanieczyszczonych kadmem, ołowiem i cynkiem. W mojej opinii rozdział stanowiący „Wstęp” czyli przegląd literatury został napisany rzetelnie i wystarczająco z uzasadnieniem istoty i potrzeby prowadzonych badań. Treść powyższego rozdziału jest trafnie dobrana i świadczy przede wszystkim o bardzo dobrym odczytaniu Doktoranta i znajomości tematu.

Rozdział drugi pracy „Materiały i metody” obejmuje zwarty opis zastosowanych metod oraz warunków przeprowadzonych badań, liczy 16 stron. Na pierwszych 6 stronach Doktorant przedstawia szczegółowy wykaz zastosowanych w pracy materiałów tj.: odczynniki, enzymy, materiały i aparaturę. W kolejnej części tego podrozdziału liczącego 10 stron Doktorant szczegółowo opisuje zastosowane metody badań wraz z podaniem szczegółowych warunków ich wykonania. Opisy metod dotyczą wszystkich kolejnych poziomów badań prowadzonych przez Doktoranta zaczynając od izolacji i oceny wstępnej wyizolowanych szczepów, poprzez badania wrażliwości wyselekcjonowanych szczepów, badania zakresu gospodarza roślinnego, ustalenie pozycji taksonomicznej oraz zróżnicowania metabolicznego szczepów, jak również badań dotyczących wpływu metali na metabolizm szczepów a kończąc na wyborze najefektywniejszego szczepu. W tej części Doktorant szczegółowo opisuje także metodyki dotyczące oceny wpływu pierwiastków śladowych na wzrost koniczyny łąkowej oraz metodyki oceny wpływu biopreparatu z

czynnikami Nod na wzrost roślin w warunkach skażenia pojedynczymi pierwiastkami śladowymi oraz jednoczesną kontaminacją podłoża kadmem, cynkiem i ołowiem.

Bardzo ciekawym podejściem do badań jest zastosowanie w ocenie zróżnicowania metabolicznego płytek Biolog. Metoda Biolog to bardzo czuła i często stosowana analiza w ocenie bioróżnorodności mikroorganizmów. Mam jednak pytanie dlaczego zdecydowano się właśnie na dobór takich a nie innych płytek Biolog? Doktorant podaje także bardzo szczegółowe i pracochłonne metodyki oceny zróżnicowania genetycznego wyizolowanych szczepów. Czy na tym poziomie badań nie wystarczające byłoby jedynie zsekwencjonowanie fragmentu 16S rRNA i ustalenie pozycji taksonomicznej szczepów na podstawie baz danych? Bardziej ważna z punktu widzenia całości pracy jest potrzeba oceny zróżnicowania metabolicznego wyizolowanych szczepów bakteryjnych.

Odnosząc się do tej części pracy (pomimo moich powyższych wątpliwości i uwag) uważam, że Doktorant zaplanował i przeprowadził poprawnie badania zgodnie z obowiązującą metodologią. Opis metod i procedur jest przejrzysty, czytelny, wykonany z należytą starannością i co warto podkreślić udokumentowany licznymi tabelami. Niemniej jednak w mojej ocenie dość oszczędnie potraktowano w opisie metodyki analizy statystyczne. Doktorant skupił się jedynie na prostych analizach wariancji i wyznaczeniu testów istotności. W opisie metod statystycznych Doktorant nie podaje także poziomu badanych istotności. Czytelnik może je jednak znaleźć przy opisach poszczególnych tabel. Ponadto moim zdaniem bardzo cenne od strony statystycznej w ocenie zróżnicowania metabolicznego wyizolowanych szczepów byłoby zastosowanie analizy głównych składowych, korelacji i regresji, czy chociażby map cieplnych obrazujących wykorzystanie poszczególnych źródeł węgla. W pracy doktorskiej wybrano do badań ponad 250 takich źródeł węgla, co stanowi szerokie pole do oceny statystycznej tych wyników. Mam nadzieję, że analiza taka zostanie wykonana przy opracowywaniu wyników badań do przyszłych publikacji naukowych.

Trzeci rozdział dysertacji stanowi cel pracy opisany na jednej stronie z dokładnym opisem dwóch celów szczegółowych dotyczących: po pierwsze izolacji, selekcji i charakterystyki szczepów ryzobiów charakteryzujących się podwyższoną opornością na jony cynku, kadmu i ołowiu, zdolnych do efektywnej stymulacji wzrostu roślinnego gospodarza w warunkach skażenia; po drugie zbadania wpływu wyselekcjonowanego

szczepu i jego metabolitów, takich jak czynniki Nod, na wzrost roślin bobowatych w warunkach imitujących skażenie na terenach zdegradowanych. W tej części pracy Doktorant powinien także postawić zasadniczą hipotezę badań.

W mojej opinii cel badań oraz cele szczegółowe zostały poprawnie zaplanowane a w toku realizacji badań Doktorant uzyskał wyniki dające odpowiedź na postawione wcześniej cele.

Najobszerniejszą częścią dysertacji jest **rozdział czwarty** „Wyniki” liczący 36 stron. Doktorant przedstawił szczegółowy opis uzyskanych wyników badań łącznie na 15 rysunkach oraz w 33 tabelach. W kolejnych podrozdziałach Doktorant omawia szczegółowo uzyskane wyniki badań.

Wyniki zróżnicowania genetycznego wyizolowanych szczepów przedstawiono na dendrogramach na podstawie amplifikacji fragmentu genu 16S rRNA oraz fragmentu genu *nodA*. Doktorant przedstawił także szczegółowo wyniki badań dotyczące zróżnicowania wyizolowanych szczepów techniką RFLP z zastosowaniem dwóch enzymów restrykcyjnych *BsuRI* oraz *TaqI*. Na tej podstawie Doktorant wydzielił spośród badanych szczepów 19 genotypów. Z najwyższą częstością występował genotyp 3 (18% wszystkich profili) oraz genotyp 2 (12%). Wykorzystując wyniki analizy RFLP doktorant w sposób poprawny opracował dendrogramy opisujące wzajemne podobieństwo otrzymanych genotypów. W celu bardziej szczegółowej analizy różnicowania genetycznego Doktorant wykonał także analizę AFLP dla wybranych 19 szczepów stanowiących oddzielne genotypy uzyskane z wcześniejszej analizy RFLP. Na podstawie analizy AFLP Doktorant wyodrębnił dwie grupy szczepów: szczepy wyizolowane z brodawek korzeniowych różnych gatunków koniczyny oraz w drugiej grupie dwie znacznie różniące się podgrupy.

W kolejnym podrozdziale Doktorant przedstawia wyniki badania wrażliwości wyselekcjonowanych 19 szczepów na sole cynku, ołowiu i kadmu. Wyniki tych badań oparte są zarówno na analizach płytkowych jak również za pomocą preparatów mikroskopowych barwionych jodkiem propidyny i fluoresceiną. W tej części wyników badań Doktorant wykazał najwyższą wrażliwość na obecność jonów Zn^{2+} , Pb^{2+} i Cd^{2+} szczepów wyizolowanych z brodawek przelotu. Czym można wytłumaczyć uzyskane wyniki badań? Czy może to być związane z genotypem samej rośliny a tym samym specyficznością symbiontu bakteryjnego do danej rośliny?

W dalszej części opisu wyników Doktorant przedstawia dane dotyczące oceny wpływu gospodarza na proces brodawkowania opracowany dla 8 wyselekcjonowanych szczepów. W tej części pracy Doktorant wykazuje ścisłą specyficzność gatunkową symbionta w stosunku do rośliny i nie wykazuje symbiozy badanych szczepów z komoniką i przelotem. Proszę rozwinąć temat specyficzności gatunkowej symbionta do danej rośliny.

Zastosowane do kolejnych testów szczepy bakteryjne zostały także poddane analizie taksonomicznej na podstawie zamplifikowanych fragmentów genów homeostatycznych. Wyniki tych analiz Doktorant w sposób bardzo dokładny i rzetelny przedstawia na 8 dendrogramach a cała analiza podsumowana zostaje analizą MLSA, która polega na jednoczesnej analizie sekwencji kilku genów metabolizmu podstawowego. Zastosowanie tej analizy w opisie wyników jest bardzo zasadne.

Doktorant dość pobieżnie i szczerkowo przedstawia jednak wyniki badań zróżnicowania metabolicznego wyselekcjonowanych szczepów. Biorąc pod uwagę fakt, iż w badaniach zastosowano łącznie 235 substratów i z pewnością uzyskano wiele interesujących danych Doktorant zdecydował się jedynie na zaprezentowanie jednego dendrogramu i krótkiego opisu wyników na dwóch stronach dysertacji. W późniejszym opracowaniu wyników do publikacji ta część badań powinna być szczegółowo przeanalizowana.

Bardzo ciekawą częścią badań ocenianej dysertacji stanowi opis wyników dotyczący wyboru najefektywniejszego szczepu bakteryjnego oraz izolacja czynników Nod szczepu *Rhizobium leguminosarum* TR4. W tym miejscu chciałabym podkreślić czy jednak poprawnym językowo jest pojęcie „preparat czynników Nod”, czy nie lepiej stylistycznie byłoby napisać „preparat zawierający czynniki Nod”?

Doktorant uzyskał także bardzo obiecujące od strony praktycznego zastosowania wyniki badań dotyczące wpływu jonów cynku, kadmu i ołowiu na wzrost koniczyny łąkowej oraz wpływ szczepu *Rhizobium leguminosarum* TR4 na wzrost koniczyny łąkowej przy pojedynczym i łącznym skażeniu podłoża jonami kadmu, cynku i ołowiu. Uzyskane wyniki badań stanowią bardzo ciekawy aspekt praktyczny i innowacyjny prowadzonych badań.

W tym miejscu nasuwa się kolejne pytanie dlaczego przy jednoczesnym wzroście masy roślin nie uzyskano znaczącego wzrostu zawartości azotu w masie roślinnej względem innych kombinacji?

Najbardziej obiecujące wydają się jednak wyniki uzyskane przy jednoczesnym potraktowaniu roślin szczepem *Rhizobium leguminosarum* TR4 i czynnikami Nod w warunkach imitujących skażenie jonami cynku, kadmu i ołowiu. Najlepszy efekt Doktorant uzyskał przy jednoczesnej inokulacji szczepem *Rhizobium leguminosarum* TR4 oraz podaniu preparatu zawierającego czynniki Nod, gdzie uzyskał dwukrotnie wyższą masę roślin niż w grupie kontrolnej. Również procentowa zawartość azotu w suchej masie roślin była w tej grupie o 35% wyższa niż w grupie kontrolnej.

Podsumowując, rozdział ten od strony merytorycznej jest opisany poprawnie i kompetentnie. Niewielkie wspomniane przez mnie braki w opisie i zobrazowaniu wyników mogą być uzupełnione na etapie przygotowywania publikacji naukowych. Ponadto rozdział ten tak jak i cała dysertacja nie jest wolny od drobnych błędów redakcyjnych i literowych. Z tego miejsca pragnę wymienić chociażby: brak indeksu górnego na stronie 55 przy wymienianiu jonów pierwiastków śladowych, str. 75 opis w tekście dotyczy cynku a przedstawione tabele dotyczą wyników badań z ołowiem (najprawdopodobniej błąd przy kopiowaniu i w tekście powinno znaleźć się słowo ołów), czy braki interpunkcyjne i literowe, brakujące kropki, dodatkowe spacje itp.

Piąty rozdział dysertacji stanowi Dyskusja opisana na 6 stronach. Rozdział ten jest bardziej próbą podsumowania uzyskanych wyników badań niż rzetelną dyskusją. Niemniej jednak Doktorant na tych kilku stronach podejmuje próbę dyskusji i powiązania wyników własnych z danymi literaturowymi. Ostatni akapit rozdziału stanowi swoiste podsumowanie pracy, które w moim odczuciu powinno być przeredagowane na wnioski końcowe, których brak w pracy. Doktorant na str. 82 dyskusji zamieszcza także tabelę, która w moim odczuciu powinna znaleźć się w części dotyczącej wyników badań.

Kończącą część dysertacji czyli rozdziałem VI i VII jest streszczenie w języku polski i angielskim. W streszczeniu w języku polskim na stronie 86 Doktorant cytuje zgłoszenie patentowe, które jednak nie znalazło się w spisie literatury.

Rozdział VIII stanowiący „Spis literatury” to spis 169 pozycji literaturowych, z czego ponad 75% stanowi literaturę anglojęzyczną. Spośród wszystkich wymienionych w

spisie literatury pozycji w tekście nie znalazłam cytowania prac: Begum A.A. i wsp. (2001b), Masso-Boivin i wsp. (2009), Matthyse A.G. (2006).

Dysertacja zakończona jest spisem rysunków i tabel. Wszystkie rysunki i tabele zamieszczone w spisie zostały odwołane w tekście.

4. Wniosek końcowy

Podsumowując prezentowana rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną mgr Marka Wójcika. Jednocześnie stanowi **niezwykle kompleksowe i nowatorskie opracowanie** dotyczące zastosowania szczepu *Rhizobium leguminosarum* TR4 i preparatu zawierającego czynniki Nod do wspomagania wzrostu roślin bobowatych w warunkach skażenia gleb pierwiastkami śladowymi. Doktorant dowiódł, iż posiada szeroką wiedzę w powyższej tematyce, jak również potrafi zaplanować i właściwie przeprowadzić badania metodyczne związane z powyższą tematyką. Moim zdaniem sformułowany problem badawczy został w pełni osiągnięty. Lektura dysertacji robi bardzo dobre wrażenie, a wykazane w tekście uwagi recenzentki nie ujmują wartości pracy. Wykorzystany przez Doktoranta warsztat naukowo-badawczy jest bardzo szeroki, a uzyskane wyniki umożliwiły pełne osiągnięcie zakładanych na wstępie celów pracy. Praca nie budzi zastrzeżeń pod względem formalnym i merytorycznym. Na uznanie zasługuje dobrze przemyślany plan badań i dobór metod badawczych.

W świetle powyższej oceny, rozprawa spełnia aktualne wymagania merytoryczne i formalne, które zostały określone w art. 13 Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym z 14 marca 2003 r. (Dz. U. nr 65 poz. 595 wraz z późniejszymi zmianami). Wnoszę więc do Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie o dopuszczenie Pana mgr Marka Wójcika do kolejnych etapów postępowania doktorskiego. Jednocześnie ze względu na duże walory poznawcze i aplikacyjne otrzymanych wyników badań wnoszę wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr. Marka Wójcika.