

## 1. SUMMARY

Arbuscular mycorrhizal fungi (AGM) are obligate symbionts of the phylum Glomeromycota that are essential for the functioning of ecosystems, as the vast majority of land plants use them to take up hard-to-reach macro- and micronutrients from the soil. The symbiosis with AGM is particularly important for maritime sandy biotopes, where plant growth is limited by low soil quality and nutrient content, high salinity, as well as high insolation and strong winds. Numerous studies confirm the importance and universality of this symbiosis in dune areas.

One of such areas, poorly known in terms of AGM biodiversity, are maritime dunes of the Curonian Spit. So far, studies conducted there have suggested a high species richness of AGM and the occurrence of undescribed species. Therefore, the objectives of the undertaken research were: (1) to determine the occurrence and diversity of AGM associated with dune plants of the Curonian Spit on the basis of quantitative analyzes and morphology of spores extracted from field samples of rhizosphere soil and root fragments, pot cultures inoculated with these samples, and molecular phylogeny of these fungi, (2) to define the morphology and phylogeny of potentially new AGM species and species whose morphological descriptions and phylogenetic position were doubtful or unknown based on the collections from the Curonian Spit and the AGM collection grown in the Plant Protection Laboratory, Department of Environmental Management, Faculty of Environmental Management and Agriculture, West Pomeranian University of Technology in Szczecin, and (3) to determine the possibility of using AGM in the protection of protected and endangered plants and dunes of the Curonian Spit.

The study was carried out in two dune areas located in the Lithuanian part of the Curonian Spit, in dunes of the strict reserve and the Parnidis dune, near the village of Nida. 132 field mixtures of rhizosphere soil and root fragments of five plant species (*Ammophila arenaria*, *Hieracium umbellatum*, *Lathyrus japonicus* ssp. *maritimus*, *Linaria loeselli*, *Viola littoralis*) were collected, from which 132 trap cultures were created. In total, 4162 spores were extracted from field samples and trap cultures, among which 25 species and 17 undescribed morphotypes were identified. The molecular phylogeny of the studied AGM was reconstructed based on sequence analyzes of the SSU-ITS-LSU nrDNA region and the *RPBI* gene.

The eudominants in the study area were *Cetraspora gilmorei*, *Acaulospora mellea*, and *Scutellospora dipurpurescens*, which constituted 32.32%, 13.41%, and 10.84% of all spores extracted from field samples, respectively. Four morphotypes represented the dominant group: *Glomus tetrastratosum* (9.13%), *G. microaggregatum* (8.82%), unrecognized *Diversispora* sp. (6.46%), and *Acaulospora paulinae* (5.52%).

The most frequently found species were *Cetraspora gilmorei* (present in 63.64% of samples), *Scutellospora dipurpurescens* (59.09%), *Glomus tetrastratosum* (46.97%), *Archaeospora trappei* (38.64%), *Rhizoglomus irregulare* (36.36%), and *C. pellucida* (22.73%).

For two research sites and the entire region, AGM diversity was determined on the basis of the following indices: H' Shannon species diversity, Simpson species richness  $D_1$ , Simpson  $D_2$  dominance, Berger-Parker BP dominance, and Simpson uniformity. The Jaccard Index was also calculated, which made it possible to compare the AGM species diversity of the study area with that found in other coastal dunes of the Baltic Sea coast, i.e., in the dunes of Bornholm and Słowiński National Park.

Based on morphological and phylogenetic analyses, a new family (*Pervetustaceae*), six new genera (*Desertispora*, *Halonatospora*, *Innospora*, *Oehlia*, *Pervetustus*, *Sclerocarpum*), and 19 new species (*Acaulospora ignota*, *Diversispora peridiata*, *D. sabulosa*, *D. slowinskiensis*, *D. sporocarpia*, *D. varaderana*, *Dominikia difficilevidera*, *Do. duoreactiva*, *Do. emiratia*, *Do. lithuanica*, *Do. litorea*, *Entrophospora hanlinii* (= *Claroideoglomus hanlinii*), *Glomus bareae*, *G. tetrastratosum*, *Kamienskia divaricata* (= *Mikrokamienskia divaricata*), *Pervetustus simplex*, *Rhizoglomus dunense*, *Sacullospora felinonii*, *Sclerocarpum amazonicum*) were described. In addition, five new nomenclature combinations were created (*Desertispora omaniana*, *Halonatospora pansihalos*, *Innospora majewskii*, *Oehlia diaphana*, *Rhizoglomus vesiculiferum*).

The conducted research showed that potentially the best AGM to be used in the protection of protected plants and endangered dunes of the Curonian Spit would be *Acaulospora mellea*, *Archaeospora trappei*, *Cetraspora pellucida*, *Glomus tetrastratosum*, *Rhizoglomus irregulare*, and *Scutellospora dipurpurescens* due to their dominant participation in the AGM spore communities of this area.

**Key words:** AGM, biodiversity, Glomeromycota, Curonian Spit, mycorrhiza, dunes.

## 2. STRESZCZENIE

Arbuskularne grzyby mykoryzowe (AGM) są obligatoryjnymi symbiontami z gromady Glomeromycota, które mają zasadnicze znaczenie dla funkcjonowania ekosystemów, ponieważ zdecydowana większość roślin lądowych wykorzystuje je do pobierania trudno dostępnych makro- i mikroelementów z gleby. Symbioza z AGM ma szczególnie duże znaczenie dla piaszczystych biotopów, gdzie wzrost roślin jest ograniczony niską jakością gleby i zasobnością w składniki odżywcze, dużym zasoleniem oraz nasłonecznieniem i silnymi wiatrami. Liczne badania potwierdzają znaczenie i powszechność tej symbiozy na terenach wydmych.

Jednym z takim obszarów, słabo poznanym pod względem bioróżnorodności AGM, są wydmy Mierzei Kurońskiej. Dotychczas przeprowadzone tam badania sugerowały duże bogactwo gatunkowe AGM i występowanie gatunków nieopisanych. Dlatego celami podjętych badań były: (1) określenie występowania i różnorodności AGM związanych z roślinami wydmy Mierzei Kurońskiej na podstawie analiz ilościowych i morfologii zarodników wyekstrahowanych z polowych prób gleby ryzosferowej i fragmentów korzeni, kultur wazonowych zainokulowanych tymi próbkami oraz molekularnej filogenezy tych grzybów, (2) zdefiniowanie morfologii i filogenezy potencjalnie nowych gatunków AGM oraz gatunków, których opisy morfologiczne i stanowisko filogenetyczne były wątpliwe lub nieznane na podstawie zbiorów z Mierzei Kurońskiej oraz kolekcji AGM hodowanej w Pracowni Ochrony Roślin, Katedry Kształtowania Środowiska Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie i (3) określenie możliwości wykorzystania AGM w ochronie roślin chronionych i zagrożonych oraz wydmy Mierzei Kurońskiej.

Badanie przeprowadzono na dwóch obszarach wydmych znajdujących się na litewskiej części Mierzei Kurońskiej, na wydmach rezerwatu ścisłego i wydmie Parnidis, obok miejscowości Nida. Pobrano 132 polowe mieszaniny gleby ryzosferowej i fragmentów korzeni pięciu gatunków roślin (*Ammophila arenaria*, *Hieracium umbellatum*, *Lathyrus japonicus* ssp. *maritimus*, *Linaria loeselli*, *Viola littoralis*), z których utworzono 132 kultury pułapkowe. Łącznie wyizolowano z prób polowych i kultur pułpkowych 4162 zarodniki, wśród których zidentyfikowano 25 gatunków i 17 nieopisanych morfotypów. Filogenezę molekularną badanych AGM rekonstruowano na podstawie analiz sekwencji regionu SSU-ITS-LSU nrDNA i genu *RPB1*.

Eudominantami na badanym terenie były *Cetraspora gilmorei*, *Acaulospora mellea* i *Scutellospora dipurpurescens*, które stanowiły odpowiednio 32,32%, 13,41% i 10,84% wszystkich zarodników wyekstrahowanych z prób polowych. Cztery morfotypy reprezentowały grupę dominantów: *Glomus tetrastratosum* (9,13%), *G. microaggregatum* (8,82%), nierozpoznana *Diversispora* sp. (6,46%) i *Acaulospora paulinae* (5,52%).

Najczęściej znajdowanymi gatunkami były *Cetraspora gilmorei* (obecna w 63,64% prób), *Scutellospora dipurpurescens* (59,09%), *Glomus tetrastratosum* (46,97%), *Archaeospora trappei* (38,64 %), *Rhizoglomus irregulare* (36,36%) i *C. pellucida* (22,73%).

Dla dwóch stanowisk badawczych i dla całego rejonu określono różnorodność AGM na podstawie następujących wskaźników: różnorodność gatunkowa  $H'$  Shannona, bogactwo gatunkowe Simpsona  $D_1$ , dominacja Simpsona  $D_2$ , dominacja Bergera-Parkera BP i równomierność Simpsona. Obliczono również Indeks Jaccarda, który pozwolił porównać różnorodność gatunkową AGM badanego obszaru z różnorodnością gatunkową AGM stwierdzonych w innych wydmach nadmorskich wybrzeża Morza Bałtyckiego, tj. w wydmach Bornholmu i Słowińskiego Parku Narodowego.

Na podstawie przeprowadzonych analiz morfologicznych i filogenetycznych, opisano nową rodzinę (*Pervetustaceae*), sześć nowych rodzajów (*Desertispora*, *Halonatospora*, *Innospora*, *Oehlia*, *Pervetustus*, *Sclerocarpum*) i 19 nowych gatunków (*Acaulospora ignota*, *Diversispora peridiata*, *D. sabulosa*, *D. slowinskiensis*, *D. sporocarpia*, *D. varaderana*, *Dominikia difficilevidera*, *Do. duoreactiva*, *Do. emiratia*, *Do. lithuanica*, *Do. litorea*, *Entrophospora hanlinii* (= *Claroideoglomus hanlinii*), *Glomus bareae*, *G. tetrastratosum*, *Kamienskia divaricata* (= *Mikrokamienskia divaricata*), *Pervetustus simplex*, *Rhizoglomus dunense*, *Sacullospora felinovii*, *Sclerocarpum amazonicum*). Ponadto utworzono pięć nowych kombinacji nomenklaturowych (*Desertispora omaniana*, *Halonatospora pansihalos*, *Innospora majewskii*, *Oehlia diaphana*, *Rhizoglomus vesiculiferum*).

Przeprowadzone badania wykazały, że potencjalnie najlepszymi AGM do wykorzystania w ochronie roślin chronionych i wydm Mierzei Kurońskiej byłyby *Acaulospora mellea*, *Archaeospora trappei*, *Cetraspora pellucida*, *Glomus tetrastratosum*, *Rhizoglomus irregulare* i *Scutellospora dipurpurescens* z powodu ich dominującego udziału w zbiorowiskach zarodników AGM tego obszaru.

**Słowa kluczowe:** AGM, bioróżnorodność, Glomeromycota, Mierzeja Kurońska, mykoryza, wydmy.

23.06.2023  
Anna Kotwicka



**UNIWERSYTET ROLNICZY**  
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie  
**Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu**  
31-120 Kraków, al. A. Mickiewicza 21  
Tel. + 48 12 662-40-96  
E-mail: kmib@urk.edu.pl

Kraków, dnia 07 sierpnia 2023 r.

## **Recenzja rozprawy doktorskiej**

**Autor: mgr inż. Anna Kozłowska**

**Tytuł pracy:**

**„Badania możliwości wykorzystania arbuskularnych grzybów  
mykoryzowych (gromada Glomeromycota) w ochronie roślin chronionych  
i w ydm Mierzei Kurońskiej oraz arbuskularne grzyby mykoryzowe innych  
stanowisk”**

Praca wykonana w Katedrze Kształtowania Środowiska na Wydziale Kształtowania  
Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w  
Szczecinie pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Janusza Błazzkowskiego

Recenzja została przygotowana w odpowiedzi na pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny  
Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu  
Technologicznego w Szczecinie Pani dr hab. inż. Joanny Podlasińskiej, prof. ZUT z dnia  
05.07.2023 roku, w którym poinformowano mnie, że uchwałą z dnia 30.06.2023 r. zostałam  
powołana na recenzentkę ww. pracy.

### **Problematyka badawcza**

Grzyby to najbardziej zróżnicowane Królestwo organizmów na Ziemi, do którego  
obecnie zliczonych jest ponad 100.000 gatunków, jednak według różnych danych  
literaturowych może być ich nawet 5 milionów. Nowe techniki badawcze (analizy  
molekularne) stosowane w diagnostyce mykologicznej pozwalają na regularne uzupełnianie  
listy znanych gatunków, jednak ogromne zróżnicowanie tej grupy sprawia wiele trudności z  
usystematyzowaniem istniejącej wiedzy. Arbuskularne grzyby mykoryzowe zostały

stosunkowo niedawno umieszczone w gromadzie Glomeromycota na co pozwoliły badania molekularne – jednak systematyka grzybów nadal podlega licznym zmianom, a propozycje naukowców niekiedy bywają sprzeczne.

Według różnych szacunków blisko 90% roślin tworzy związki z grzybami, które pozwalają im skutecznie kolonizować niesprzyjające środowiska lądowe jak gleby silnie zakwaszone czy piaszczyste - o niskiej zawartości materii organicznej i wody. To właśnie arbuskularne grzyby mykoryzowe często pomagają roślinom naczyniowym zaaklimatyzować się i rozwijać w niekorzystnych warunkach – toteż coraz powszechniejsza staje się mykoryzacja (głównie drzew) przed ich introdukcją na nowe tereny. Dla wielu roślin symbioza z grzybami jest warunkiem ich przetrwania na trudnych stanowiskach jakimi są piaszczyste tereny w tym wydmy. Polskie wydmy są cennymi przyrodniczo siedliskami licznych roślin chronionych: halotolerancyjnych/halofilnych i kserotolerancyjnych – co zapewne w dużej mierze jest zasługą grzybów żyjących z nimi w symbiozie. Grzyby mykoryzowe nie tylko zwiększają powierzchnię chłonną korzeni i pełnią funkcję „sanitarną” ochraniając rośliny przed patogenami - szczególnie tymi, które atakują system korzeniowy i zmniejszając ich wrażliwość na stresy abiotyczne i biotyczne - ale także, podobnie jak inne grzyby strzępkowe, ograniczają erozję wodną i wietrzną gleb poprzez tworzenie sieci strzępek i produkcję szeregu substancji agregujących.

Skuteczna ochrona polskich wydm będzie możliwa jedynie po dobrym poznaniu tego środowiska, jego bioróżnorodności i zależności troficznych organizmów w nim bytujących, a wykorzystanie AGM naturalnie występujących w ryzosferze roślin wydmych i już zaadaptowanych do takich warunków wydaje się kluczowym elementem ich ochrony.

Polska od dawna posiada technologie pozwalające na produkcję biopreparatów zawierających aktywne szczepy grzybów mykoryzowych i sterowanej mykoryzacji sadzonek, warto zatem te osiągnięcia wykorzystać także w przypadku chronionych roślin wydmych - na co zwraca uwagę w swojej pracy doktorantka typując gatunki grzybów, które mogą być użyteczne w rekonstrukcji wydm Mierzei Kurońskiej.

Temat badawczy stanowi istotny wkład doktorantki w poszerzenie wiedzy z zakresu mykologii środowiskowej i poznanie wielogatunkowych społeczności arbuskularnych grzybów mykoryzowych roślin obszarów chronionych, a podjęta w rozprawie tematyka jest aktualna, oryginalna, i wpisuje się w światowe trendy.

Przeprowadzone przez doktorantkę kilkuletnie badania dostarczyły wielu ciekawych wyników i z pewnością stanowiły dla autorki niemałe wyzwanie szczególnie, że

wykorzystywała w analizach nie tylko metody tradycyjne, ale także techniki molekularne co dobrze świadczy o jej warsztacie badawczym i przygotowaniu do pracy laboratoryjnej. Doceniam także ogromny wysiłek doktorantki włożony w zestawienie, opracowanie i analizę wyników.

Mając na uwadze różnorodność i szeroki zakres wykonanych badań oraz dogłębną analizę wyników pozytywnie oceniam opracowanie, które – w mojej ocenie, wobec braku dyscypliny ochrona środowiska - mieści się w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka.

### **Ocena pracy pod względem formalnym i strukturalnym**

Przedstawiona do recenzji praca została przygotowana w formie zwięzłego opracowania w sposób typowy dla doktorskich prac eksperymentalnych i obejmuje 72 strony maszynopisu - w tym 64 strony zasadniczego tekstu (z uwzględnieniem stron tytułowych i spisu treści).

Opracowanie podzielono aż na siedemnaście rozdziałów z licznymi podrozdziałami systematyzującymi informacje literaturowe, cel pracy, dane na temat zastosowanych materiałów i metod badawczych – w tym obliczeń statystycznych, opis wyników uzyskanych z badań własnych autorki, dyskusję, rozdział poświęcony ocenie możliwości wykorzystania AGM w ochronie roślin wzdłuż Mierzei Kurońskiej i wnioski. W pracy zawarto również spis wykorzystanej bibliografii oraz streszczenia w języku polskim i angielskim.

Chociaż treść pracy została przedstawiona logicznie i we właściwej kolejności to jednak mam pewne zastrzeżenia dotyczące jej podziału na rozdziały i podrozdziały:

- podrozdziały 5.3 i 5.3.1 – powinny w mojej ocenie stanowić całość jako „Pobór prób do badań”, tym bardziej, że podrozdział „Badania polowe” zawiera informacje dotyczące liczby zebranych prób, ich masy i roślin, spod których próbki pochodziły, a nie eksperymentu polowego (bo takiego nie założono);

- rozdziały 6, 7, 8 dotyczą części metodycznej i jako takie powinny stanowić kolejne podrozdziały rozdziału 5. „Materiał i metody”;

- z kolei rozdziały 10, 11, 12 i 13 powinny stanowić część rozdziału 9. „Wyniki” ponieważ tego właśnie dotyczą.

Pod względem formalnym opracowanie nie wzbudza zastrzeżeń, jest napisane w sposób poprawny językowo – błędy edytorskie są nieliczne. Praca przygotowana jest spójnie, a zgromadzone pozycje literatury zostały zacytowane poprawnie.

Wykorzystana w przygotowaniu opracowania starannie dobrana bibliografia obejmuje 116 pozycji z czego 14 to netografia (strony internetowe). Zgromadzona literatura to głównie najnowsze publikacje w języku angielskim oraz pozycje starsze, które niezbędne były dla prawidłowego przedstawienia analizowanego zagadnienia, zarówno od strony teoretycznej jak i praktycznej.

Sposób zestawienia rezultatów badań i wykonana analiza świadczą o tym, że doktorantka potrafi dojrzałe i trafnie weryfikować informacje naukowe.

W pracy znajdujemy 15 tabel (w tym jedną zasadniczo jako suplement), głównie zawierających wyniki badań własnych oraz 7 rycin związanych przede wszystkim z częścią metodyczną. Treść pracy uzupełnia również dokumentacja fotograficzna (5 zdjęć). Jednak większość danych uzyskanych w trakcie realizacji doktoratu przedstawiono w formie opisowej, co wynika ze specyfiki prowadzonych badań.

### **Ocena pracy pod względem metodycznym**

W ramach części eksperymentalnej recenzowanej pracy doktorantka wykonała szereg analiz próbek pobranych z ryzosfery pięciu roślin wydmowych (*Ammophila arenaria*, *Viola littoralis*, *Hieracium umbellatum*, *Linaria loeselli*, *Lathyrus japonicus* ssp. *maritimus*) dwóch stanowisk Mierzei Kurońskiej zmierzających do oceny częstotliwości występowania i obfitości zarodnikowania arbuskularnych grzybów mykoryzowych.

Ilość pobranych próbek i wykonanych badań podstawowych (132 próbki gleby ryzosferowej i kultury pułapkowe założone z tych gleb) pozwala sądzić, że uzyskane wyniki są wiarygodne i reprezentatywne dla badanego środowiska.

Autorka nie tylko wyizolowała zarodniki AGM i zidentyfikowała je w oparciu o cechy morfologiczne, ale, co istotniejsze, przeprowadziła także analizy molekularne (PCR), a po uzyskaniu sekwencji izolatów grzybów porównywała je ze znanymi sekwencjami znajdującymi się w GenBanku, co pozwoliło nie tylko na oznaczenie ich przynależności systematycznej ale także ujawnienie w nim pozycji rodzajów/gatunków wcześniej niezidentyfikowanych. Doktorantka umiejętnie wykorzystała informacje zawarte na stronach GenBanku, MycoBanku i innych baz danych dotyczących diagnostyki mykologicznej, co często stanowi wyzwanie nie tylko dla młodych badaczy.

Metodyka została poprawnie opisana i uzupełniona odsyłaczami do stosownych tekstów źródłowych. Doświadczenia były zaplanowane logicznie, a szeroko zakrojone badania wymagały od doktorantki znajomości różnych technik badawczych, dokładności oraz

dużego nakładu pracy w laboratorium, bowiem tego typu analizy są bardzo czasochłonne i wymagają ogromnego zaangażowania badacza.

W oparciu o zgromadzone dane autorka wykonała liczne obliczenia zmierzające do określenia bioróżnorodności AGM roślin chronionych Mierzei Kurońskiej w oparciu o kilka wskaźników: ogólnej różnorodności  $H'$ Shannona, bogactwa gatunkowego Simpsona, dominacji Simpsona oraz Bergera-Parkera i równomierności Simpsona.

Do części metodycznej mam tylko prośbę o uzasadnienie wyboru babki lancetowatej (*Plantago lanceolata*) jako rośliny pułapkowej w badaniach wazonowych.

### **Ocena merytoryczna pracy**

Autorka pracy postawiła sobie właściwie trzy cele dotyczące nie tylko określenia częstotliwości występowania i różnorodności AGM związanych z roślinami wydmowymi Mierzei Kurońskiej na podstawie analiz ilościowych i morfologii zarodników wyekstrahowanych z prób gleby ryzosferowej oraz kultur wazonowych i molekularnej filogenezy ich DNA; określenia morfologii i filogenezy potencjalnie nowych gatunków AGM oraz gatunków, których opisy morfologiczne oraz filogenetyczne są wątpliwe lub nieznane (zbiory z Mierzei Kurońskiej oraz kolekcja AGM macierzystej jednostki), ale, co moim zdaniem najistotniejsze, oceny możliwości wykorzystania AGM w ochronie roślin chronionych i zagrożonych wydm Mierzei Kurońskiej.

Teoretyczne podstawy związane z celami badawczymi autorka przedstawiła w kilkustronicowym wstępie, w którym omówiła zagadnienia dotyczące występowania, roli, systematyki i problemów związanych z identyfikacją AGM. W tym rozdziale doktorantka uwzględniła również podstawowe informacje na temat Mierzei Kurońskiej zwracając uwagę na niedobór danych związanych z grzybami występującymi w symbiozie z roślinami wydmowymi tego obszaru, które można w praktyce wykorzystać do mykoryzacji roślin endemicznych wydm.

Zamierzony cel badań doktorantka osiągnęła przeprowadzając liczne analizy materiałów pobranych z dwóch stanowisk wyznaczonych na wydmach Mierzei Kurońskiej. W ramach przeprowadzonych w przemyślany sposób badań nie tylko określiła liczebność, przynależność systematyczną i częstotliwość występowania arbuskularnych grzybów mykoryzowych związanych z roślinnością wydmową, ale określiła także pozycję filogenetyczną nowych rodzajów i gatunków oraz – co uważam za szczególnie istotne - zasugerowała, które z nich mogą zostać wykorzystane do mykoryzacji roślin chronionych stanowisk wydmowych

Mierzei Kurońskiej. Ważna w rozdziale Wyniki jest także szczegółowa charakterystyka nowych rodzajów i gatunków AGM wyizolowanych, oznaczonych i opisanych w trakcie prowadzenia badań.

Rezultaty badań zostały poddane dyskusji w rozdziale czternastym, w którym autorka omówiła uzyskane wyniki na tle literatury. W ramach tego rozdziału dokonana została szczegółowa analiza tekstów źródłowych związanych z tematyką przeprowadzonych badań – wyjątkowo cenny wydaje się tutaj podrozdział dotyczący możliwości wykorzystania arbuskularnych grzybów mykoryzowych w ochronie roślin chronionych i wydm. Autorka atwierdziła, że AGM naturalnie występujące w ryzosferze roślin Mierzei Kurońskiej najlepiej nadają się do mykoryzacji roślin wydmowych tego obszaru gdyż są już do niego zaadaptowane - co również znalazło poparcie w cytowanych tekstach źródłowych.

W końcowym rozdziale autorka zamieściła sześć wniosków, które stanowią bezpośrednie odbicie otrzymanych wyników badań, są rzeczowe i odnoszą się do celu pracy.

Na zacytowanie zasługuje wniosek ostatni, w którym autorka podsumowując swoje badania podaje, że do rekonstrukcji wydm badanego terenu należy wykorzystać inokulum zawierające jeden lub kilka gatunków spośród dominujących: *Acaulospora mellea*, *Archaeospora trappei*, *Cetraspora gilmorei*, *C. pellucida*, *Glomus tetrastratosum*, *Rhizoglomus irregulare* i *Scutellospora dipurpurescens*, po przetestowaniu efektywności funkcjonalnej utworzonych kombinacji.

Mając na uwadze informacje zawarte w poszczególnych rozdziałach i podrozdziałach praca może stanowić istotną pozycję w literaturze dotyczącej nie tylko mykoryzy arbuskularnej, ale także diagnostyki mykologicznej ze względu na zawarte w niej szczegółowe opisy nowej rodziny *Pervetustaceae* oraz nowych rodzajów i gatunków AGM.

Tytuł przedstawionej do recenzji rozprawy zasadniczo odpowiada zakresowi badań wykonanych w trakcie jej realizacji, chociaż mój pewien niedosyt budzi brak wyników dotyczących wzrostu roślin po inokulacji wybranymi AGM, ponieważ tylko wymieniono gatunki grzybów, które można do niej potencjalnie wykorzystać, a takich analiz właśnie spodziewałam się w ocenianej pracy.

W tym miejscu mam również uwagi i pytanie dotyczące nowej rodziny i nowych rodzajów oraz gatunków: m.in. na stronie 61 podaje Pani: „...Ponadto na podstawie żywej kolekcji AGM hodowanych w Katedrze Kształtowania Środowiska opisano nową rodzinę, *Pervetustaceae*...” – opis tej rodziny można znaleźć już w publikacji z 2017 roku „A new family, *Pervetustaceae* with a new genus, *Pervetustus* , and *P. simplex* sp. nov.

(Paraglomerales), and a new genus, *Innospora* with *I. majewskii* comb. nov. (Paraglomeraceae) in the Glomeromycotina” w czasopiśmie *Nova Hedwigia*.

W związku z powyższym proszę wyjaśnić, co nowego Pani badania, wykonane w ramach realizacji doktoratu, wniosły do charakterystyki tej rodziny i opisu m.in. rodzaju *Pervetustus* i innych rodzajów/gatunków, ponieważ część informacji można znaleźć w opublikowanych w ostatnich latach pracach.

Z obowiązku recenzentki przedstawiam również inne uwagi dotyczące pracy (głównie drobne błędy edycyjne), mając jednocześnie nadzieję, że posłużą lepszemu przygotowaniu publikacji do druku:

- 1) Autorka niestety nie ustrzegła się błędów w nazewnictwie - chociażby na stronach 10 (mikoryzacja) i 63 (mikoryzowe) - zgodnie z decyzją Rady Języka Polskiego, powinniśmy używać terminu mykoryza w miejsce powszechnie dotychczas stosowanego mikoryza. Rada Języka Polskiego przy Prezydium Polskiej Akademii Nauk w dnia 27 czerwca 2011 roku, na XXXV posiedzeniu plenarnym, na którym zostały przedstawione i omówione kwestie dotyczące ustalenia fonetyczno-graficznej formy nazwy nauki o grzybach, opowiedziała się za przyjęciem, jako jedynie poprawnej formy zapisywanej przez „y”, czyli: mykologia i słów pochodnych jak: mykologiczny, mykolog, mykoryza. Informację o decyzji można znaleźć na stronie Polskiego Towarzystwa Mykologicznego;
- 2) Strona 8 – użyto skrótu AMF podczas gdy w pozostałej części pracy używano AGM;
- 3) Strona 13 – jest: „...zebrano 132 prób korzeni...” – powinno być „...zebrano 132 próby korzeni...”;
- 4) Strona 26 - jest: „...wydają się być niepełne lub są nieopisanych taksonami...” - powinno być: „...wydają się być niepełne lub są nieopisane taksonami...”;
- 5) Strona 26 - cytuję: „Katedra Kształtowania Środowiska utrzymuje kolekcję żywych kultur AGM, których opisy wydają się być niepełne lub są nieopisanych taksonami; grzyby te pochodziły z ponad trzydziestu krajów świata. Wykorzystując metody opisane wyżej izolowano i przeprowadzano identyfikacje morfologiczną oraz molekularną tych grzybów.” – (pomijając błędy gramatyczne) chciałam zwrócić uwagę na fakt, że skoro grzyby znajdują się w kolekcji to raczej nie wymagały już izolacji;
- 6) Strona 30 – „... stwierdzono występowanie 17 morfotypów wspólnych...” - powinno być: „...stwierdzono występowanie 17 gatunków wspólnych...” – to, że izolaty wykazują podobieństwo morfotypowe nie znaczy, że grzyby należą do tego samego

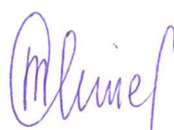
gatunku – o czym zresztą autorka pisze w innej części pracy po dokonaniu identyfikacji molekularnej wyizolowanych szczepów;

- 7) Strony 26, 61, 64 (i inne) – chociaż forma „znajdywać” niepoprawną nie jest, to jest przestarzała i obecnie praktycznie nieużywana, dlatego skłaniam się ku użyciu słowa „znajdować”;
- 8) Strona 63 – jest „... najlepiej zaadoptowane do...” - powinno być: „...najlepiej zaadaptowane do...”;

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując recenzję stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa naukowa pt. „Badania możliwości wykorzystania arbuskularnych grzybów mykoryzowych (gromada Glomeromycota) w ochronie roślin chronionych i wydm Mierzei Kurońskiej oraz arbuskularne grzyby mykoryzowe innych stanowisk” przygotowana przez mgr inż. Annę Kozłowską stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wskazuje, że autorka posiada niezbędną wiedzę teoretyczną, zdolna jest do planowania eksperymentów, opanowała techniki laboratoryjne oraz umiejętność prowadzenia pracy badawczej w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych, dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka spełniając tym samym wymagania ustawowe stawiane pracom doktorskim w myśl artykułu 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 roku w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (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 członków Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie mgr inż. Anny Kozłowskiej do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.



Dr hab. inż. Maria J. Chmiel, prof. URK

Pani Przewodnicząca Rady Dyscypliny Inżynieria  
Środowiska, Górnictwo i Energetyka,  
Profesor Joanna Podlasińska

Recenzja pracy doktorskiej

**Imię i nazwisko kandydata: Anna Kozłowska**

**Tytuł rozprawy doktorskiej: Badania możliwości wykorzystania arbuskularnych grzybów mykoryzowych (gromada Glomeromycota) w ochronie roślin chronionych i wydm Mierzei Kurońskiej oraz arbuskularne grzyby mykoryzowe innych stanowisk**

**Promotor: Prof. dr hab. Inż. Janusz Błaszkowski, Katedra Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny**

**Recenzent: prof. dr hab. Katarzyna Turnau, Uniwersytet Jagielloński**

1. **Wartość naukowa rozprawy**

**a. Oryginalność badań**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska autorstwa mgr inż. Anny Kozłowskiej stanowi oryginalne opracowanie uzyskanych przez Autorkę wyników dotyczących bioróżnorodności arbuskularnych grzybów mykoryzowych (AGM) Mierzei Kurońskiej. Wykonana praca obejmowała zbiór materiałów w terenie, założenie kultur jednogatunkowych, identyfikację morfologiczną, izolację DNA, analizy filogenetyczne i statystyczne, charakterystykę gleb, ocenę możliwości wykorzystania AGM w ochronie roślin chronionych. Nie da się przecenić wartości naukowej przedstawionej do recenzji pracy z wielu względów. Praca doskonale wpisuje się w nurt badań Prof. Janusza Błaszковского. Zespół Pana Profesora jest jednym z kilku na Świecie rozpracowujących grupę Glomeromycota pod względem morfologicznym i molekularnym/filogenetycznym. Prof. Błaszkowski ma kilku oddanych współpracowników w kraju, którzy starają się pomóc, ale niestety każda z tych osób bez wkładu Prof. Błaszковского nie jest w stanie prowadzić tego typu badań. Prof. Błaszkowski bazuje wobec tego na doktorantach i na szczęście ma do nich dobrą rękę. Po przeczytaniu kolejnej pracy doktorskiej, tym razem autorstwa Pani Kozłowskiej stwierdzam, że po raz kolejny udało się pozyskać cenną współpracowniczkę. Sytuacja jest tym bardziej zaskakująca, że według obecnych szacunków opisano zaledwie 5% istniejących gatunków Glomeromycota. Na podkreślenie zasługuje tu fakt, że w ramach niniejszej pracy doktorskiej doktorantka brała udział w opisie nowej rodziny, sześciu nowych rodzajów, dziewiętnastu nowych gatunków i utworzono pięć nowych kombinacji nomenklaturowych. Nie słyszałam o innym przypadku doktoranta z takimi osiągnięciami. Grupa Glomeromycota jest niezwykle trudna do badań, stąd zresztą tak

niewielka liczba osób zajmujących się zagadnieniem, pomimo ogromnej wagi tych grzybów w środowisku i wprost kluczowego znaczenia w ochronie roślinności w dobie zmian klimatycznych, które cechują okresy suszy i gwałtownych ulew, co sprzyja zasoleniu i wymywaniu pierwiastków z gleby. Przedstawiona praca dotyczy terenu, który pod względem badań Glomeromycota był dotychczas prawie nie zbadany (istnieje jedna praca z 2014 roku, dotycząca pojedynczego gatunku *Rosa rugosa* i sekwencji DNA z korzeni). Takich luk w Polsce i na Świecie mamy bardzo wiele. Dobrze więc, że zagadnienie AGM cieszy się niegasnącym zainteresowaniem zarówno wśród młodych ludzi (magistrantów i doktorantów) jak i wśród zaawansowanych pracowników naukowych, którzy wspierają działania prof. Błaszczowskiego, ale jest dla nich zbyt późno aby przejąć wiedzę od Prof. Błaszczowskiego, szczególnie ze względu na to, że współpraca polega głównie tylko na dostarczaniu materiału badawczego do analiz. Aby nabyć umiejętności trzeba czasu i pracy w ścisłym kontakcie z Ekspertem.

#### **b. Wartość naukowa rozdziałów/artyków:**

Praca doktorska mgr Kozłowskiej obejmuje 17 rozdziałów. Poza streszczeniem w dwóch językach, krótkim wstępem oraz jasno sprecyzowanymi celami pracy ważnym elementem są precyzyjnie opisane metody, które pozwalają na śledzenie dalszych części pracy. Wyniki pracy, obejmujące 34 strony tekstu. Jest to przede wszystkim zestawienie gatunków AGM, które stwierdzono na badanych terenach lub w trakcie badań uzupełniających, które prowadzono przy okazji porównań taksonów w kolekcji żywych kultur Katedry Kształtowania Środowiska. Uzupełnienie tej pracy stanowi sześć publikacji w latach 2017-2019.

## **2. Wartość merytoryczna rozprawy**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska pokazuje umiejętność Autorki wprowadzenia w tematykę badawczą. Jasno sformułowane są hipotezy badawcze, znakomicie dobrane są metody i narzędzia statystyczne do analizy danych. Profesjonalny i precyzyjny jest sposób przedstawienia i analizy wyników, umiejętność ich interpretacji na tle literatury przedmiotu, obejmującej ponad sto cytowanych publikacji oraz kilkanaście adresów stron internetowych. Do pracy ujęto też opracowanie licznych materiałów opracowanych na podstawie żywych kultur AGM utrzymywanych w pracowni Profesora Błaszczowskiego. Opracowany materiał stanowi wobec tego źródło nie tylko nowych okazów badawczych o zdefiniowanych cechach morfologicznych i danych molekularnych, ale także zwiększa wagę całego banku kultur oraz bazy internetowej morfologii rozpoznanych i zdeponowanych

przedstawicieli AGM. Stanowi to podstawę do opracowania nowych metod rekultywacji terenów wydmych i strategii ochrony bioróżnorodności tego typu środowisk.

### 3. Poprawność redakcyjna rozprawy

Przedstawioną pracę czyta się bez trudności co świadczy o poprawności stylu. Struktura całości także nie budzi zastrzeżeń. Poprawnie są zestawione cele pracy.

### 4. Uwagi krytyczne

Jak w każdej pracy są także pewne niedociągnięcia, które jednak w obecnie recenzowanej pracy nie mają większego znaczenia merytorycznego. Poniżej zestawiono kilka ważniejszych uwag:

1. Tytuł rozprawy jest zbyt długi i przy pierwszym czytaniu wprowadza niepotrzebne zamieszanie. Osobiście na pierwszym miejscu pisałabym w tytule o AGM a potem o ich wykorzystaniu w ochronie wydmy na przykładzie Mierzei Kurońskiej. Pominęłabym słowo „badania”. Nie jestem pewna czy w tytule jest konieczne napisanie o innych stanowiskach.
2. Zarówno w Summary jak i streszczeniu podawane są procenty z uwzględnieniem dwóch miejsc po przecinku. Uważam to za nadmiar precyzji.
3. Mam wątpliwości czy na podstawie obfitości zarodnikowania można ocenić możliwość wykorzystania AGM w ochronie roślin zagrożonych oraz wydmy. Zapewne jest to etap, który powinniśmy brać pod uwagę przy dalszych badaniach. Ciekawa jestem w jaki sposób Doktorantka wyobraża sobie dalsze postępowanie.

### 5. Ocena końcowa (uzasadnienie 25-200 słów):

Przedstawioną do recenzji pracę uważam za bardzo cenne, oryginalne opracowanie wykonane na podstawie obszernego materiału badawczego. Nie mam wątpliwości, że Autorka dysponuje obecnie wszechstronnymi możliwościami badawczymi i będzie mogła w przyszłości potwierdzić swoje przygotowanie licznymi pracami naukowymi. Cieszy pojawienie się kolejnej osoby specjalizującej się w tym zagadnieniu, które ma istotne znaczenie praktyczne. Mam nadzieję, że po ukończeniu przewodu doktorskiego Autorka przystąpi do dalszych badań. Ze względu na przygotowanie mikrobiologiczne najbardziej odpowiednie byłyby dalsze prace dotyczące interakcji AGM z roślinami. Gorąco zachęcam do kontynuacji rozpoczętych badań. Na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że **recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Anny Kozłowskiej spełnia warunki wymagane w oparciu o przepisy ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789) oraz jest zgodna z rozporządzeniem wydanym do powyższej ustawy. Wnioskuje o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Jednocześnie wnoszę o nagrodzenie rozprawy doktorskiej Pani mgr Kozłowskiej. Praca ma szanse na praktyczne zastosowanie wyników a zgromadzenie kultur wyizolowanych szczepów, ma szczególne znaczenie ze względu na obecnie zaniechane lub nieco zaniedbane w ostatnim czasie kolekcje AGM, co wiąże się z niskim finansowaniem badań podstawowych i stale jeszcze brakiem zrozumienia przydatności tych grzybów w ochronie środowiska oraz roślin zagrożonych.

Na zakończenie, z pełnym przekonaniem pragnę podkreślić konieczność kontynuacji badań AGM i wsparcie dalszej działalności pracowni pod kierunkiem Prof. Błaszковского, który kontynuuje badania znanego na całym Świecie Prof. Dominika, a któremu Prof. Błaszkowski nie ustępuje pod żadnym względem, będąc jednocześnie człowiekiem niezwykle skromnym i pracowitym.

25.08.2023, Kraków

data sporządzenia recenzji



prof. dr hab. Katarzyna Turnau

Instytut Nauk o Środowisku

Uniwersytetu Jagiellońskiego

**UCHWAŁA NR 34**  
**Rady Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka**  
**Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie**  
**z dnia 8 grudnia 2023 r.**

**w sprawie nadania mgr inż. Annie Kozłowskiej**  
**stopnia doktora**

Na podstawie § 17b ust. 1 pkt 2 Statutu ZUT (uchwała nr 75 Senatu ZUT z dnia 28 czerwca 2019 r., z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 2 i 3 pkt 2b ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. poz. 1669, z późn. zm.), z art. 14 ust. 2 pkt 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jedn. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789, z późn. zm.) oraz z § 16 ust. 3 i 19 uchwały nr 130 Senatu ZUT z dnia 29 maja 2023 r. (z późn. zm.) w sprawie określenia sposobu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora przez Rady Dyscyplin Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie uchwala się, co następuje:

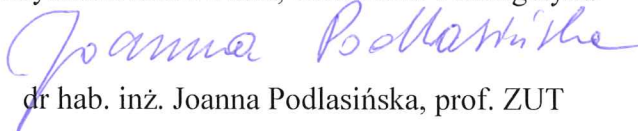
**§ 1.**

Rada Dyscypliny Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie nadaje mgr inż. Annie Kozłowskiej stopień doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych, w dyscyplinie inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka.

**§ 2.**

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

Przewodnicząca Rady Dyscypliny  
Inżynieria Środowiska, Górnictwo i Energetyka

  
dr hab. inż. Joanna Podlasińska, prof. ZUT