

Recenzja rozprawy habilitacyjnej dra Tomasza Płociniczaka pt. *Zastosowanie bakterii promujących wzrost roślin do wspomaganie fitoremediacji terenów skażonych*

1. Przedstawienie podstawowych danych o kandydacie

Dr Tomasz Płociniczak uzyskał stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia, specjalności mikrobiologia na Uniwersytecie Śląskim w Katowicach, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska (10.12.2010 r.) na podstawie rozprawy doktorskiej: Wspomaganie fitoekstrakcji metali ciężkich przez metalooporne szczepy bakterii z rodzajów *Brevibacterium*, *Enterobacter* i *Pseudomonas*. Promotorem pracy doktorskiej była Prof. dr hab. Zofia Piotrowska-Seget. Z przedstawionej dokumentacji wynika, że Kandydat przystępuje obecnie po raz pierwszy do procedury uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

2. Przebieg pracy naukowo-zawodowej

Dr Tomasz Płociniczak był zatrudniony w latach 2005 do 2012 na etacie asystenta naukowo-dydaktycznego w Katedrze Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach. Od 2012 roku zatrudniony jest na etacie adiunkta w tym samym miejscu pracy.

3. Kryteria oceny osiągnięcia oraz obowiązujące przepisy

Niniejszą recenzję wykonałam jako recenzent Komisji Habilitacyjnej powołanej decyzją Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego dr. Tomasza Płociniczaka. Ocenę osiągnięcia naukowo-badawczego oraz dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i współpracy międzynarodowej przeprowadziłam zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 lipca 2018 r. Recenzję wykonałam w oparciu o cykl publikacji opisujących osiągnięcie naukowe pt. „Zastosowanie bakterii promujących wzrost roślin do wspomaganie fitoremediacji terenów skażonych”, autoreferat oraz zestaw załączonych dokumentów.

4. Informacja o ocenianym osiągnięciu naukowym

Podstawą ubiegania się w aktualnym postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego stanowi cykl 5 publikacji określonych mianem osiągnięcia (zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt 2b Ustawy).

1. **Płociniczak T.**, Chodór M., Pacwa-Płociniczak M., Piotrowska-Seget Z. 2019. Metal-tolerant endophytic bacteria associated with *Silene vulgaris* support the Cd and Zn phytoextraction in non-host plants. *Chemosphere* 219, 250-260;
2. **Płociniczak T.**, Pacwa-Płociniczak M., Kwaśniewski M., Chwiałkowska K., Piotrowska-Seget Z. 2020. Response of rhizospheric and endophytic bacterial communities of white mustard (*Sinapis alba*) to bioaugmentation of soil with the *Pseudomonas* sp. H15 strain. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 194:110434, 1-9; DOI 10.1016/j.ecoenv.2020.110434.
3. Pacwa-Płociniczak M., **Płociniczak T.**, Żarska M., Chorążewski M., Dzida M., Piotrowska-Seget Z. 2016. Isolation of hydrocarbon-degrading and biosurfactant producing bacteria and assessment their plant growth-promoting traits. *Journal of Environmental Management* 168, 175-184
4. **Płociniczak T.**, Fic E., Pacwa-Płociniczak M., Pawlik M., Piotrowska-Seget Z. 2017. Improvement of phytoremediation of an aged petroleum hydrocarbon-contaminated soil by *Rhodococcus erythropolis* CD 106 strain. *International Journal of Phytoremediation* 19, 614-620
5. Ptaszek N., Pacwa-Płociniczak M., Noszczyńska M., **Płociniczak T.** 2020. Comparative study on multiway enhanced bio- and phytoremediation of aged petroleum-contaminated soil. *Agronomy* 10 (7), 947,

Kandydat przygotował obszerny, logiczny i interesujący autoreferat. Te trzy cechy rzadko występują razem. Widoczna jest ewolucja zainteresowań Autora i konsekwencja w dobieranych metodach i tematyce. Wszystkie prace dotyczą gleb zanieczyszczonych. Rozpoczęto od izolacji mikroorganizmów z ryzosfery i endosfery *Silene vulgaris*, rośliny występującej prawie na wszystkich odwiedzanych przez mnie hałdach. Pozyskano szczepy pod względem oporności na substancje zanieczyszczające oraz cechy przydatne w fitoremediacji, a następnie dokonano selekcji. Często na tym etapie badacze przeprowadzają eksperymenty w laboratorium, a następnie przenoszą je w teren gdzie często szczepionka stosowana jest do fitoremediacji przy zastosowaniu innego gatunku rośliny niż w laboratorium. Wtedy jednak wyniki mogą się nie potwierdzić. Kandydat dobrał do dalszych

eksperymentów gorczycę białą, która stosowana jest w fitoremediacji. Postawił pytanie czy uda się wykorzystać wyselekcjonowane szczepy izolowane z *S. vulgaris* do wspomaganie fitoremediacji terenów zanieczyszczonych przy użyciu gorczycy i czy szczepy te utrzymają się w podłożu czy też efekt zależy tylko od wzbogacenia podłoża o nutrieny pochodzące z rozkładu zastosowanych bakterii. Nie zapomniano o kontroli, którą stanowiły termicznie zabite mikroorganizmy.

Do śledzenia przeżywalności dodanych bakterii do podłoża dobrano metodę, której przyznam się nie znałam, polegającą na wprowadzeniu do kultur glebowych spontanicznych mutantów bakterii opornych na ryfampicynę, antybiotyk stosowany do leczenia np. gruźlicy, co dało możliwość odróżnienia bakterii autochtonicznych (wrażliwych na ten antybiotyk) od tych, które zostały dodane. Z kilku zastosowanych szczepów jeden dał szczególnie istotne różnice w promowaniu wzrostu gorczycy, ale właśnie ten szczep nie wykazywał zdolności do kolonizacji tkanek gorczycy. Jest to o tyle interesujące, że obecnie powszechnie jest izolowanie bakterii endofitycznych na szeroką skalę i wśród nich szuka się stymulanta, najlepiej uniwersalnego. Autor dobrze zdaje sobie sprawę z tego, że każda roślina ma swój specyficzny mikrobiom, a zatem łatwiej celować w bakterie glebowe, które wykazują znacznie mniejszą specyficzność. Z szeregu naszych badań wynika, że bakterie mogą uciekać do wnętrza tkanek roślin i wtedy same mogą być chronione przed niekorzystnymi czynnikami ekstremalnych siedlisk. Jeżeli bakterie występują poza rośliną to nie znaczy, że nie mogą się ukryć. Obserwując grzyby glebowe widzimy bakterie, które korzystają z dobrodziejstw zapewnianych przez strzępki grzybów. Bakterie mogą wchodzić do ich wnętrza lub rozwijać się na ich powierzchni, wędrując po strzępkach jak pasażer na gapę. Grzyby są często bardziej odporne na substancje toksyczne niż bakterie, wykazują szeroki wachlarz detoksyfikacji tych substancji więc taka strategia może być interesująca. W drugiej pozycji Kandydat podjął zadanie sprawdzenia czy wprowadzone do podłoża bakterie wpłyną na strukturę zespołów bakterii ryzo i endosfery. Do metody ryfampicynowej, Kandydat dołączył tu NGS. Wybór trafny, chociażby z tego względu, że NGS do tego typu badań nie był jeszcze stosowany. Poza oczywistymi reakcjami struktury zespołów mikroorganizmów glebowych z badań tych wynika jasno, że bioaugmentacja nie jest czymś co w każdej sytuacji da ten sam wynik. Tłumaczy to także niepowodzenia zabiegów bioaugmentacyjnych. Wszystko zależy od czynników abiotycznych i biotycznych z naciskiem na biotyczne, które poprzednio nie były doceniane.

W pracy trzeciej, która do badań włączyła zanieczyszczenia ropopochodne przebadano bakterie siedlisk poddanych działaniu ropy wiele lat temu. Utrudnia to wnioskowanie

ponieważ to co nadawało się do szybkiego rozłożenia już nie istniało, a pozostały tylko organizmy oligotroficzne o maksymalnej oporności na substancje toksyczne. Dominującym organizmem był tu *Rhodococcus erythropolis*, promieniowiec znany z aktywności wielu enzymów zaangażowanych w biokonwersję związków ropopochodnych, pestycydów i innych, procesy utleniania, odwodornienia, epoksydacji i zapewne długiej jeszcze listy dotąd nierozpoznanych możliwości. Poza tym, gatunek ten jest interesujący ponieważ biokontrolę realizuje przez niszczenie cząsteczek odpowiedzialnych za sygnalizację pomiędzy bakteriami (quorum sensing). Można sobie wyobrazić potencjał tego gatunku w manipulacjach konsorcjami mikroorganizmów.

W pracy czwartej użyto jednego ze szczepów *R. erythropolis*, który nie zasiedla tkanek roślinnych i bytuje w obrębie gleby ryzosferowej. Mimo to organizm ten wykazano jako najlepiej nadający się do bioremediacji gleby skażonej substancjami ropopochodnymi. Zwraca to naszą uwagę na fakt, że obecna moda poszukiwania przede wszystkim bakterii endofitycznych niekoniecznie jest najlepszym wyborem, bo w roślinach specyficzność rezydujących bakterii jest znacznie większa aniżeli w ryzosferze. Użycie tego gatunku nie powodowało istotnych i długotrwałych zmian struktury konsorcjów bakteryjnych żyjących wewnątrz roślin. Na odmianę w ostatniej pracy cyklu, gdzie użyto inny endofityczny szczep tego gatunku, nie uzyskano jednak efektu fitoremediacji, pomimo szeregu cech wspomagających wzrost roślin. Interesujący rezultat dało użycie ramnolipidów, które zwiększały kolonizację tkanek rośliny, ale nie stwierdzono korelacji tej cechy z poziomem fitoremediacji.

Kandydat jest bardzo konsekwentny w swoich badaniach. Interesujący może być dalszy rozwój tych badań. Warto może zwrócić uwagę na bakterie związane z grzybnią ryzosfery i wewnątrz tkanek. To jednak tylko sugestia.

Za najważniejsze osiągnięcia w badaniach dra Płociniczaka uważam: 1. poznanie (przy zastosowaniu NGS) różnorodności mikroorganizmów endofitycznych wewnątrz roślin uprawianych na podłożu zanieczyszczonym; 2. Stwierdzenie przewagi mikroorganizmów ryzosfery nad endofitycznymi w fitoremediacji; 3. Poszerzenie wiedzy o biologii i znaczeniu w fitoremediacji promieniowca *R. erythropolis*; 4. Stwierdzenie wpływu ramnolipidów w zwiększeniu kolonizacji tkanek roślinnych przez endofity.

5. Dane naukometryczne

23 publikacje, sumaryczny współczynnik Impact Factor 80,754, liczba cytowań 365/330 bez autocytowań oraz indeks Hirscha 13, którymi legitymuje się kandydat na dzień wszczęcia postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego to dane zadowalające. Wśród 23 publikacji, 13 to prace Q₁, 5 to Q₂, 2 to Q₃ i 3 z grupy Q₄. Przeważają więc zdecydowanie prace z pierwszego kwartyła. Grupa Q₂ są pracami o IF od 2 – 5, co stanowi nadal dobry dorobek. IF Q₃ to około 2 punkty i wciąż te prace zaliczam do wysoko cenionych w dorobku z grupy prac środowiskowo rolniczych (fitoremediacyjnych). Z kolei Q₄ to prace o charakterze bardziej popularnonaukowym, które ukazały się w polskich czasopismach i które są zwykle oceniane słabiej ale nadal są cenne i zdecydowanie nie powinny być z tego powodu niedoceniane, mają duże znaczenie dydaktyczne i osobiście np. z Postępów Mikrobiologii korzystam w czasie seminariów z mikrobiologii. Artykuł opublikowany w roku 2015 w Postęпах Mikrobiologii jest zresztą w języku angielskim co ma dodatkową wartość ze względu na fakt, że obecnie dydaktyka w dużej części opiera się na pracach w języku angielskim, prace polskojęzyczne pozwalają zaznajomić studentów z podstawami nauki i terminologią polską. Od roku 2012 do 2020 cytawalność prac dra Płociniczaka wzrosła od 1 do 110, co świadczy o wzroście zaufania do Jego prac oraz dużym potencjale na przyszłość.

Impact Factor (IF) dla publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wg bazy Journal Citation Report (JCR) z roku wydania publikacji to 19,149. Punktacja według list MNiSW: 360 [60do2018 (2)+300od2019 (3)]=500. Liczba cytowań publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego według bazy Scopus w dniu wszczęcia postępowania wynosiła 41. Wszystkie 5 publikacji według najnowszych list MNiSW to prace po 100 pkt. Są to wysoko cenione przez specjalistów czasopisma jak: Chemosphere, Journal of Environmental Management, International Journal for Phytoremediation, Ecotoxicology and Environmental Safety oraz Agronomy. Badania wykonywane przez habilitanta dotyczą zagadnień, które w zasadzie nie są prezentowane w wysoko punktowanych czasopismach takich jak Nature czy Science, natomiast wybrane przez habilitanta czasopisma gwarantują ich dostęp dla specjalistów z tego zakresu i w przyszłości zapewne będziemy obserwować znaczny wzrost ich cytawalności.

6. Rola kandydata w powstawaniu współautorskich prac naukowych

Należy stwierdzić, że dr Płociniczak odgrywał główną, bardzo istotną rolę w omawianych powyżej pracach. W trzech z nich był pierwszym autorem, również do korespondencji. W jednym przypadku był drugim autorem i w jednym ostatnim. W ostatnim przypadku praca nie obejmowała współautorstwa Pani Profesor Piotrowskiej-Seget, co sugeruje ważny krok ku usamodzielnieniu się kandydata. W większości prac dra Płociniczaka należała koncepcja badań, projekt doświadczeń, izolacja mikroorganizmów oraz interpretacja i przygotowanie co najmniej wstępnej wersji manuskryptów. Zgodnie z punktem trzecim uważam dorobek kandydata za bardzo dobry i stanowiący oryginalny wkład w rozwój mikrobiologii zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi oraz metalami toksycznymi.

7. Aktywność naukową realizowana w więcej niż jednej uczelni, w szczególności zagranicznej

Obszerna jest współpraca Habilitanta z naukowcami w Polsce (np. prof. Hrynkiewicz z Uniwersytetu w Toruniu) i w Finlandii. Współpracę z Uniwersytetem w Helsinkach, z prof. Martinem Romantschukiem (**Zal. 6 A str. 1**) i dr. Aki Sinkkonenem, prowadzi od 2008 roku, kiedy uzyskał możliwość wyjazdu na 3-miesięczne praktyki w ramach programu LLP-Erasmus. Praktyki te odbywał w Department of Ecology and Environmental Sciences w Lahti. Praktyki te umożliwiły poszerzenie warsztatu badawczego o techniki biologii molekularnej. Wyniki uzyskane w czasie praktyk zostały uwzględnione w pracy publikowanej przez jego Opiekunów a udział Habilitanta został podkreślony w podziękowaniach. Efektem pobytu w Lahti była także prezentacja w czasie konferencji oraz artykuł z prof. Romantschukiem i dr. Sinkkonenem opublikowany w *Applied Soil Ecology*. Kolejny pobyt w Finlandii w 2009 roku zaowocował pracą czasopiśmie *Journal of Soils Sediments* i zostały zaprezentowane w czasie konferencji *ISME 14* (Kopenhaga, Dania) w 2012 roku. Najwyraźniej współpraca rozwijała się doskonale i pozwoliła na włączenie się Habilitanta w projekt LIMES oraz Interreg. W ramach współpracy także naukowcy z Danii odwiedzili Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Dr Płociniczak jest aktywny w przygotowywaniu projektów, które pozwoliłyby na kontynuację współpracy. W 2020 roku złożony został wniosek projektowy w ramach programu Horizon 2020 Podejmował także próby uzyskania finansowania w innych programach jak.: Joint Programming Initiatives Water Challenges for a Changing World Agriculture, Food Security and Climate Change, 2016 (projekt Monitoring and reducing

impacts of agrochemical contaminants). W mojej opinii szkoda, że Habilitant tak konsekwentnie utrzymuje współpracę tylko z Finlandią. W najbliższej przyszłości warto byłoby zadbać o nieco dłuższy (roczny) staż np. w USA lub Belgii co ułatwi poszerzenie kompetencji i zapewni dalsze etapy kariery zawodowej.

Dorobek organizacyjny i popularyzujący

Kandydat prowadził zajęcia laboratoryjne ze studentami studiów I i II stopnia z zakresu mikrobiologii ogólnej, mikrobiologii środowiskowej i biotechnologii, a od grudnia 2012 także wykłady z Podstaw biotechnologii, Biotechnologii mikroorganizmów i Metod biotechnologicznych w ochronie środowiska oraz Biotechnologii roślin dla doktorantów WBiOŚ. W języku angielskim na studium doktoranckim prowadził następujące wykłady i zajęcia: *Advanced Methods in Biotechnology* oraz *Biodiversity Techniques for biodiversity of soil microorganisms*.

Kandydat był promotorem kilkunastu prac licencjackich, a także opiekunem merytorycznym w przypadku prac licencjackich prowadzonych przez Prof. dr. hab. Zofię Piotrowską-Seget. W roku 2017 na zaproszenie prof. Rauni Strömmera Kandydat recenzował pracę magisterską *Comparison of volatile PAH concentrations in urban and rural areas in Päijät-Häme* autorstwa Heli K. Vari, w Lahti w Finlandii.

Kandydat był współautorem dwóch kursów e-learningowych finansowanych ze środków Unii Europejskiej: *Wykorzystanie mikroorganizmów w ochronie środowiska* (2009) oraz *Mikrobiologia środowiskowa* (2013) umieszczonych na platformie Moodle Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Kursy te do dnia dzisiejszego są popularne i wykorzystywane w biotechnologii środowiska.

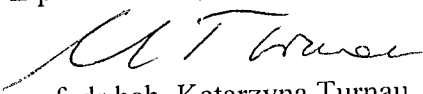
Kandydat w latach 2018-2019 prowadził autorski kurs z przedmiotu *Ekologia mikroorganizmów* i Warsztaty aparaturowe z zakresu chromatografii. Widoczne jest także stałe dążenie Kandydata to podnoszenia kwalifikacji dydaktycznych.

Podsumowując, przedstawiony do recenzji cykl prac uważam za bardzo cenne i oryginalne opracowanie wykonane na podstawie obszernego materiału badawczego. Spełnia ono kryterium dotyczące wykazania się istotną aktywnością naukową. Przedstawione plany badawcze są obiecujące i jasno sformułowane. Dr Płocienczak dysponuje wszechstronnymi możliwościami badawczymi, biegle włada nowoczesnymi metodami badawczymi, posiada świadomość publikowania w czasopismach o wysokim IF ale także pamięta o popularyzacji, utrzymuje współpracę z ośrodkami zarówno w Polsce jak i poza jej granicami.

Dorobek oceniam jako bardzo dobry, interesujący nawet dla osób specjalizujących się w innej tematyce i rokujący dalszy, konsekwentny i dynamiczny rozwój.

Nie mam wątpliwości, że kandydat spełnia wszelkie wymagania stawiane osobom starającym się o stopień doktora habilitowanego zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.Uz2018r. poz. 1668 ze zm.).
Wobec powyższego składam wniosek do Rady Naukowej o podjęcie stosownej uchwały opiniującej pozytywnie wniosek Doktora Tomasza Płocieniczaka o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Z poważaniem,



prof. dr hab. Katarzyna Turnau

Instytut Nauk o Środowisku UJ

Gronostajowa 7, Krakow

tel. 506 006 642