

Dr hab. inż. Tomasz Warzecha, prof. URK
Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Ul. Łobzowska 24, 31-140 Kraków

Kraków, 03.07.2026 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana mgr Sebastiana Burchardta pt. „Ocena przydatności kwasu poli- γ -glutaminowego (γ -PGA) w łagodzeniu skutków suszy glebowej w korzeniach łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.)” wykonanej w Katedrze Fizjologii Roślin i Biotechnologii, Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pod kierunkiem Dr hab. Emilii Wilmowicz, prof. UMK, oraz Dr Agaty Kućko z Katedry Botaniki i Fizjologii Roślin Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (promotor pomocniczy).

Recenzję wykonano na zlecenie prof. dr hab. Justyny Rogalskiej, Dziekana Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w oparciu o uchwałę Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu nr 28 z dnia 17.04.2026.

Pan mgr Sebastian Burchardt jest autorem 5 publikacji w czasopismach znajdujących się na liście JCR. W dwóch publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, jak na początek drogi naukowej posiada on dość wysoki indeks Hirsha wynoszący 4, liczbę cytowań 72, oraz sumaryczny IF 25,8 – biorąc pod uwagę 5-cio letni IF czasopism (zgodnie z wykazem Web of Science, dostęp w dniu 3.07.2026). Są to prestiżowe wysoko notowane czasopisma takie jak BMC Plant Biology, IJMS MDPI, czy Environmental and Experimental Botany.

Kandydat aktywnie brał udział w zdobywaniu funduszy na pokrycie kosztów szkoleń oraz realizację badań (np. składał wnioski o fundusze w ramach działalności statutowej Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu). Badania wykorzystane w monografii przedstawionej do recenzji finansowane były z następujących źródeł: program Diamentowy Grant IX, dwa konkursy Grants 4NCU Students w ramach programu IDUB (Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu), fundusze CExFact w ramach IDUB, minigrantów Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i przyrodniczych AST na szkolenia specjalistyczne oraz środków na podstawową działalność badawczą Katedry Fizjologii Roślin i Biotechnologii UMK (PDB, lata 2022–2025). Finansowanie obejmowało zarówno realizację projektów badawczych, jak i rozwój kompetencji doktoranta poprzez udział w szkoleniach proteomicznych i chromatograficznych.

Zakres i różnorodność źródeł finansowania wskazują na wysoką aktywność doktoranta w pozyskiwaniu środków oraz jego zaangażowanie w pracę zespołów badawczych (m.in. Zespołu dr hab. Krzysztofa Zienkiewicza, prof. UMK). Jednocześnie świadczą o umiejętności skutecznego planowania własnego rozwoju naukowego, prowadzonego w konsultacji z dr hab. Emilią Wilmowicz, prof. UMK, oraz dr Agatą Kućko — promotorkami rozprawy doktorskiej.

Szczególnie wartościowe jest uzyskanie Diamentowego Grantu oraz dwukrotne finansowanie w konkursach Grants 4NCU Students, co wskazuje jednocześnie na poziom zgłaszanych projektów, oraz ich zgodność z dominującą tematyką badawczą Katedry. Włączenie doktoranta w zespół CExFact oraz udział w specjalistycznych szkoleniach

proteomicznych i chromatograficznych świadczą o konsekwentnej rozbudowie warsztatu metodycznego kluczowego dla realizacji pracy doktorskiej. Lista źródeł funduszy jest kompletna, klarownie uporządkowana i w sposób przekonujący przedstawia zaplecze finansowe, na którym opierały się prowadzone badania.

Tytuł rozprawy doktorskiej w pełni odzwierciedla zakres przeprowadzonych i opisanych w dysertacji badań.

Rozprawa doktorska mgr Sebastiana Burchardta dotyczy wieloaspektowej analizy roli kwasu poli γ -glutaminowego w łagodzeniu stresu abiotycznego jakim jest deficyt wody u *Lupinus luteus*. Analizy te dotyczą regulacji homeostazy redoks, fitohormonalnej oraz lipidowej, a także przebudowy ściany komórkowej. Wymienione procesy stabilizują metabolizm komórek korzeni łubinu żółtego. Doktorant w rozdziale Cel pracy słusznie nawiązuje do tradycji badań i wieloletniego dorobku Katedry Fizjologii Roślin i Biotechnologii UMK, podkreślając ciągłość badań nad reakcją *Lupinus luteus* na stres suszy glebowej. Wskazanie trzech głównych nurtów badawczych – fitohormonalnego, ścian komórkowych oraz stresu oksydacyjnego – tworzy spójne tło merytoryczne i dobrze uzasadnia potrzebę rozszerzenia analiz o wpływ egzogenne kwasu poli γ -glutaminowego na system korzeniowy.

Ocena i uwagi dotyczące poszczególnych rozdziałów

W otrzymanej do recenzji pracy liczącej 156 stron druku występują wszystkie elementy typowe dla rozpraw doktorskich zatem spełnia ona wymagania formalne i merytoryczne stawiane tego typu opracowaniom. Recenzowana rozprawa doktorska została napisana w sposób staranny i przejrzysty do czego poza dobrym odbiorem tekstu przyczyniają się figury (22), fotografie (3), schematy (7), Tabele (12). W przypadku figur pojawia się drobna niespójność formatu (figura nr 10: „Fig. 10”, zamiast Figura 10). Natomiast włączone elementy graficzne ułatwiają odbiór opisu doświadczeń i wyników badań co jest dużym plusem rozprawy doktorskiej Pana mgr Sebastiana Burchardta.

W przedstawionym opracowaniu Doktorant zamieścił bardzo rozbudowany rozdział Literatura obejmujący 469 pozycji. W spisie dominują źródła anglojęzyczne 449 (95,7%) ale mamy też 20 prac polskojęzycznych, które zapewniają kontekst krajowy dla badań nad łubinem i rolnictwem w Polsce. Literatura jest bardzo aktualna — 31,6% pozycji pochodzi z ostatnich pięciu lat (2021–2026), co oddaje intensywny rozwój badań nad tolerancją stresu, biostymulatorami, γ -PGA, mikrobiomem i fizjologią roślin. Zestawienie obejmuje zarówno klasyczne prace o znaczeniu fundamentalnym, jak i najnowsze publikacje z wiodących czasopism (Nature Climate Change, Plant Physiology, Frontiers in Plant Science, BMC Plant Biology). Dobór literatury jest szeroki, interdyscyplinarny i spójny z zakresem badań, obejmując fizjologię stresu, biochemię, cytologię, mikrobiologię glebową, symbiozę z bakteriami brodawkowymi oraz zagadnienia klimatyczne. Pojawiają się tu jedynie drobne niespójności typograficzne, które nie wpływają na wysoką ocenę całości rozdziału Literatura. Tak rozbudowany wykaz literatury, który na pewno wyróżnia pracę Pana mgr Sebastiana Burchardta ma swój wydźwięk w obszernym i wyczerpującym rozdziale Wstęp oraz Dyskusja. Autor zrezygnował z typowego rozdziału przegląd literatury, ale wspomniany wcześniej rozdział Wstęp zawiera kilka kluczowych podrozdziałów, do których wrócę w dalszej części recenzji.

Po dodatkowych informacjach na temat finansowania badań i rozwoju warsztatu metodycznego Doktoranta, w rozprawie znajdujemy Spis treści (str.6-7), następnie Wykaz stosowanych skrótów (str.8-9), który jest pomocny, zwłaszcza w tego typu pracach zawierających treści molekularne i biochemiczne, dalej Wykaz łacińskich i polskich nazw gatunkowych stosowanych w pracy (str. 10-11) następnie Streszczenie (str.12-13) i Abstract (str. 14-15). W rozdziale 1. Wstęp liczącym 25 stron Autor zamieścił informacje dające

kompleksowy, aktualny i merytorycznie spójny przegląd literatury dotyczący problemu suszy, mechanizmów obronnych roślin, znaczenia roślin motylkowatych, wiązania azotu atmosferycznego przez bakterie symbiotyczne i również możliwości łagodzenia skutków suszy glebowej w korzeniach łubinu żółtego dzięki biostymulantom jak γ -PGA. W końcowej części rozdziału Wstęp Doktorant podkreślił luki w wiedzy na temat mechanizmów przeciwdziałania suszy glebowej w systemie korzeniowym, co dało okazję do płynnego przejścia do założeń badawczych i celu pracy. Dlatego też pozwolę sobie o dokładniejsze spojrzenie na rozdział Wstęp.

W podrozdziale 1.1., pt. „Susza w warunkach zmian klimatycznych” Doktorant opisuje rodzaje suszy (glebowa, atmosferyczna, hydrologiczna) oraz podaje przyczyny ich występowania (hydrologiczne, atmosferyczne, klimatyczne, antropogeniczne). Zwraca uwagę na wpływ suszy na fizjologię roślin (szereg procesów biochemicznych ale również dostępność składników odżywczych pobieranych w formie rozpuszczonej w wodzie, poza samym brakiem wody w strefie korzeniowej to również czynniki wpływające na ograniczenie plonowania roślin, plonowanie jest też redukowane z powodu skracania kresu wegetacji z powodu deficytu wody. Ze względu na zmiany klimatyczne problem suszy w przyszłości może się nasilać, już w tym momencie dotyczy krajów strefy subtropikalnej a od wielu już lat jest to coraz powszechniejszy problem w Polsce. Od początku XXI wieku wzrasta częstotliwość występowania suszy glebowej, szczególnie w centralnej i zachodniej części Polski. Doktorant zwraca uwagę na straty w plonowaniu strategicznych dla polskiej gospodarki roślin jak pszenica, kukurydza, rośliny okopowe. W kolejnym podrozdziale 1.2. „Mechanizmy adaptacyjne roślin do stresu suszy” Kandydat opisuje mechanizmy przystosowawcze roślin do stresu suszy. Susza glebowa wywołuje u roślin kaskadę zaburzeń obejmujących ograniczenie wzrostu, uszkodzenia aparatu fotosyntetycznego, zakłócenia procesów generatywnych oraz głębokie zmiany w funkcjonowaniu korzeni, które decydują o tolerancji na deficyt wody. Niedobór wody prowadzi do zamykania aparatów szparkowych, spadku fotosyntezy i nadprodukcji reaktywnych form tlenu, inicjujących stres oksydacyjny, degradację makrocząsteczek i peroksydację lipidów. W odpowiedzi rośliny aktywują systemy antyoksydacyjne (SOD, CAT, APX, GWPX) oraz syntetyzują osmoprotektanty, zwłaszcza prolinę, która stabilizuje struktury komórkowe, reguluje potencjał wody i pełni funkcję antyoksydantu. Jednocześnie susza modyfikuje metabolizm lipidów (NAE/FAAH), przebudowuje ścianę komórkową poprzez zmiany w celulozie, hemicelulozach i pektynach oraz wpływa na architekturę systemu korzeniowego i aktywność akwaporyn, co umożliwia utrzymanie transportu wody i minimalizację strat hydraulicznych. Całość tych procesów odzwierciedla złożoną, wielopoziomową adaptację roślin do deficytu wody. Kolejnym ważnym zagadnieniem prezentowanym we Wstępie jest „Rola mikroorganizmów ryzosferowych promujących wzrost roślin”. Bakterie ryzosferowe PGPR wspierają rośliny w warunkach stresu, zwiększając dostępność składników mineralnych poprzez wiązanie azotu i solubilizację fosforu, potasu czy cynku, a także modulując gospodarkę hormonalną roślin dzięki produkcji auksyn (IAA) oraz enzymu ACC-deaminazy, który ogranicza stresowe podwyższenie etylenu. Dodatkowo PGPR syntetyzują siderofory ułatwiające pobieranie żelaza i jednocześnie hamujące rozwój patogenów. Wpływają również na ekspresję genów związanych z odpornością i rozwojem korzeni poprzez aktywację szlaków JA i ET, uruchamiając mechanizm indukowanej odporności systemicznej (ISR). Dzięki tym wielokierunkowym działaniom PGPR poprawiają wzrost, funkcjonowanie i tolerancję roślin na suszę. Bardzo trafnym okazał się kolejny podrozdział Wstępu 1.3. „Rośliny strączkowe”, w którym Doktorant przedstawił tę grupę roślin w aspekcie ich znaczenia gospodarczego i środowiskowego. Rośliny strączkowe (*Fabaceae*) mają kluczowe znaczenie gospodarcze i środowiskowe dzięki wysokiej zawartości białka w nasionach, szerokiemu wykorzystaniu w żywieniu ludzi i zwierząt oraz wyjątkowej zdolności do biologicznego wiązania azotu, która poprawia żyzność gleby i ogranicza potrzebę

stosowania nawozów mineralnych. Włączane do płodozmianu zwiększają produktywność roślin następczych, poprawiają strukturę, retencję wody i aktywność mikroflory glebowej, a także redukują emisję gazów cieplarnianych. Szczególnie istotna jest ich symbioza z bakteriami *Rhizobium*, umożliwiającą redukcję azotu atmosferycznego do amoniaku, co wzbogaca ryzosferę w przyswajalne formy azotu na poziomie 100–300 kg N·ha⁻¹ rocznie. Dzięki tym właściwościom rośliny strączkowe stanowią fundament zrównoważonych agroekosystemów i ważny komponent produkcji rolniczej. Kolejny logiczny element Wstępu zamieszczony przez Doktoranta dotyczy symbiozy roślin strączkowych z bakteriami brodawkowymi. Polega ona na tworzeniu brodawek korzeniowych, w których bakterie *Rhizobium/Bradyrhizobium* przekształcają się w bakteroidy zdolne do redukcyjnego wiązania azotu dzięki nitrogenazie działającej w warunkach kontrolowanego stężenia tlenu regulowanego przez leghemoglobinę. Proces nodulacji jest inicjowany przez wymianę sygnałów: roślinne flawonoidy aktywują bakteryjne geny *nod* poprzez regulator NodD, co prowadzi do syntezy czynników Nod rozpoznawanych przez receptory korzeniowe i uruchamiających kaskadę sygnałową obejmującą napływ Ca²⁺, reorganizację cytoszkieletu oraz ekspresję wczesnych i późnych genów nodulinowych odpowiedzialnych za formowanie nici infekcyjnych, rozwój brodawek i funkcjonowanie nitrogenazy. Efektywność wiązania azotu jest silnie zależna od warunków środowiskowych — susza, wysoka temperatura, podwyższone pH oraz niedobór żelaza ograniczają aktywność nitrogenazy, transport asymilatów i stabilność brodawek, czyniąc ten proces najbardziej wrażliwym na stres u strączkowych. Inokulacja nasion odpowiednimi, host-specyficznymi szczepami *Bradyrhizobium* znacząco zwiększa liczbę i masę brodawek, aktywność nitrogenazy oraz plon, szczególnie na glebach ubogich w autochtoniczne rizobia. Brodawki *Lupinus luteus* mają formę nieokreśloną, lupinoidalną, z merystemem umożliwiającym ich wzrost i wysoką aktywność metaboliczną na korzeniu głównym, co zapewnia efektywny transport związków azotowych do części nadziemnych. Doktorant opisał również rolę łubinu żółtego (*Lupinus luteus*) jako cennego gatunku strączkowego o wysokiej wartości paszowej i dużej zawartości białka, który poprawia żyzność gleb dzięki efektywnemu wiązaniu azotu, lecz jego uprawę ogranicza silna wrażliwość na suszę. Deficyt wody hamuje wzrost korzeni, redukuje liczbę brodawek i aktywność nitrogenazy, a także zaburza gospodarkę hormonalną poprzez indukcję biosyntezy ABA (*LIZEP*) i etylenu (*LIACS*, *LIACO*), co prowadzi do akumulacji ACC i spadku zawartości żelaza, pogarszając funkcjonowanie brodawek. W procesie organogenezy brodawek kluczową rolę odgrywa gen *LIBOP*, którego ekspresja koreluje z aktywnością leghemoglobiny i prawidłowym różnicowaniem tkanek. Susza, wysoka temperatura i podwyższone pH gleby silnie obniżają efektywność symbiozy, czyniąc wiązanie azotu najbardziej wrażliwym procesem fizjologicznym u łubinu. Mimo licznych zalet agronomicznych, podatność na stres wodny stanowi główne ograniczenie jego uprawy i uzasadnia potrzebę intensywnych badań nad mechanizmami tolerancji suszy. W kolejnym podrozdziale Wstępu 1.4., „Biologiczne metody łagodzenia stresu” Doktorant przedstawia znaczenie naturalnych biopolimerów, które mogą stanowić obiecujące narzędzie łagodzenia stresów abiotycznych, poprawiając wzrost roślin, właściwości gleby i funkcjonowanie mikrobiomu ryzosfery. Chitozan wzmacnia fotosyntezę i systemy antyoksydacyjne, alginiany poprawiają retencję wody i umożliwiają immobilizację PGPR, a egzopolisacharydy mikroorganizmów zwiększają porowatość gleby i tworzą hydrofilową mikrosferę wokół korzeni. Szczególne znaczenie ma kwas poli- γ -glutaminowy (γ -PGA), naturalny biopolimer *Bacillus*, którego unikalne właściwości hydrofilowe, chelatujące i strukturalne wynikają z obecności wiązań γ -amidowych oraz zmiennej konformacji zależnej od pH i stężenia. Kwas poli- γ -glutaminowy poprawia pojemność wodną gleb, stabilizuje agregaty, zwiększa efektywność wykorzystania wody i plonowanie wielu gatunków, wzmacnia fotosyntezę, aktywność enzymów antyoksydacyjnych, akumulację proliny oraz regulację hormonalną (ABA). Działa także jako nośnik składników nawozowych, ograniczając ich wymywanie i

zwiększając dostępność, co podnosi plony o 10–30% przy jednoczesnej redukcji zużycia nawozów mineralnych. Ponadto moduluje mikrobiom ryzosfery, stymulując PGPR i poprawiając pobieranie składników pokarmowych, produkcję fitohormonów oraz odporność na suszę. Dzięki temu γ -PGA stanowi wszechstronny biopolimer o dużym potencjale aplikacyjnym w rolnictwie zrównoważonym.

Ten podrozdział wyraźnie przywołuje duży aplikacyjny potencjał badań podjętych przez Doktoranta. Mamy tu wyraźne logiczne powiązanie zagadnienia podstawowego jak rola γ -PGA w procesach fizjologicznych towarzyszących suszy glebowej, wiązaniu azotu przez bakterie symbiotyczne a stąd wypływa aspekt aplikacyjny w postaci zabezpieczenia plonowania roślin na odpowiednim poziomie pomimo stresu suszy glebowej.

Doktorant po przeanalizowaniu dostępnych informacji na temat γ -PGA, trafnie zwraca uwagę na dużą lukę informacyjną związaną ze słabo poznanym wpływem tego biostymulatora na system korzeniowy zwłaszcza w odniesieniu do *Lupinus luteus*. Podkreśla, że dotychczasowe badania nad γ -PGA koncentrowały się głównie na gatunkach modelowych takich jak kukurydza, czy rzepak w aspekcie funkcjonowania części nadziemnych roślin. Brakuje danych dotyczących molekularnych mechanizmów działania γ -PGA w korzeniach, jego wpływu na sygnalizację hormonalną, ekspresję genów stresowych, aktywność białek obronnych, metabolizm oraz kształtowanie brodawek korzeniowych. Ta luka badawcza uzasadnia podjęcie analiz obejmujących trzy hipotezy: (1) skuteczność biostymulacji zależy od dawki i terminu aplikacji γ -PGA, (2) polimer stabilizuje strukturę brodawek, wzmacnia potencjał antyoksydacyjny i modyfikuje ściany komórkowe, zmniejszając podatność na suszę, (3) zwiększona tolerancja wynika z regulacji hormonalnej, lipidowej i zmian w profilu białkowym korzeni. Wyniki takich badań mogą mieć znaczenie zarówno poznawcze, jak i aplikacyjne, wspierając rozwój biostymulatorów dla strączkowych w warunkach nasilających się zmian klimatycznych. W tekście Wstępu pojawiają się drobne niuanse terminologiczne jak np. określenie „hodowli zwierzęcej” (str. 26), choć kontekst dotyczy żywienia i wartości pokarmowej pasz. Hodowla odnosi się do działalności twórczej opartej na zasadach genetyki, ukierunkowanej na doskonalenie i tworzenie nowych ras zwierząt, dlatego w tym miejscu właściwszym terminem byłby „chów zwierząt”. Ale nie wpływają one istotnie na wysoką wartość merytoryczną tego rozdziału.

Wstęp został opracowany w sposób klarowny, logiczny i dobrze oddający wielopoziomowy charakter odpowiedzi roślin na deficyt wody. Doktorant umiejętnie integruje kluczowe procesy fizjologiczne, biochemiczne i molekularne, przedstawiając zarówno bezpośrednie skutki stresu suszy, jak i wtórne mechanizmy adaptacyjne obejmujące systemy antyoksydacyjne, syntezę osmoprotektantów, przebudowę ścian komórkowej oraz zmiany w metabolizmie lipidów i architekturze systemu korzeniowego. Podobnie syntetycznie i poprawnie hierarchizuje zagadnienia dotyczące działania bakterii PGPR, roli roślin strączkowych w agroekosystemach oraz złożonej biologii nodulacji.

Następnie w rozdziale 2. Cel pracy Kandydat prawidłowo przedstawił hipotezę badawczą i cel pracy doktorskiej. Nawiązuje do prowadzonych badań w Katedrze Fizjologii Roślin i Biotechnologii nad wpływem suszy na funkcjonowanie systemu korzeniowego w aspekcie fitohormonalnym, modyfikacji struktury i funkcji ścian komórkowych oraz stresu oksydacyjnego. Ogólnie rzecz ujmując Doktorant postawił sobie za cel sprawdzenie czy egzogeny γ -PGA może łagodzić negatywne skutki suszy glebowej w systemie korzeniowym i w brodawkach korzeniowych łubinu żółtego (*Lupinus luteus*). Aby zrealizować ten cel ogólny zaplanował następujące cele szczegółowe:

1. Ocena działania γ -PGA obejmująca analizę wzrostu i nodulacji (pokrój roślin), kondycji fotosyntetycznej (Fv/Fm), gospodarki wodnej korzenia oraz poziomu proliny jako kluczowego osmoprotektanta.

2. Ocena ultrastruktury brodawek, ekspresji genów (*LLOX*, *LIACS*, *LIACO*, *LIZEP*, *LLOX*, *LILBOP*, *LILbl*) w reakcji na suszę, funkcjonowania systemu antyoksydacyjnego (H_2O_2 , ASC, SOD, CAT, APX, GWPX), poziomu MDA jako markera peroksydacji lipidów, zmian w składzie i estryfikacji pektyn oraz akumulacji ksyloglukanów.
3. Ocena wpływu γ -PGA na homeostazę hormonalną brodawek poprzez immunolokalizację ABA, ACC i JA.
4. Ocena wpływu γ -PGA na metabolizm kwasów tłuszczowych poprzez oznaczenie poziomu LOX oraz lokalizację FAAH.
5. Ocena odpowiedzi łubinu żółtego na γ -PGA na poziomie proteomu poprzez identyfikację białek.

Cele szczegółowe są kompletne, poprawnie pogrupowane i obejmują wszystkie istotne aspekty funkcjonowania korzenia oraz brodawek korzeniowych w warunkach stresu. Ich struktura jest przejrzysta, choć momentami bardzo rozbudowana; mimo to zachowują logiczną sekwencję od poziomu morfologicznego, przez fizjologię i biochemię, aż po proteom. Taki układ dobrze odzwierciedla kompleksowy charakter pracy.

Tu mam jednak uwagę redakcyjną. W przedstawionym celu szczegółowym pojawia się sformułowanie „*zbadanie wpływu γ -PGA na strukturę komórek*”, które w swojej obecnej formie może być odebrane jako nieco zbyt ogólne. Ponieważ dalsza część celu jednoznacznie wskazuje, że analizie poddano komórki brodawek korzeniowych, warto byłoby rozważyć doprecyzowanie tego już w pierwszym zdaniu, aby od początku zachować pełną klarowność i spójność opisu. Drobna korekta mogłaby polegać na zmianie pierwszego zdania na bardziej precyzyjne, np.: „*Zbadanie wpływu γ -PGA na strukturę komórek brodawek korzeniowych oraz na przemiany zachodzące na poziomach genetycznym i biochemicznym w oparciu o wyniki analiz:...*”. Takie doprecyzowanie nie zmienia treści merytorycznej celu, lecz podnosi jego przejrzystość i ułatwia odbiór całego zestawu analiz. Sugestia ta ma charakter redakcyjny — sama koncepcja badawcza jest logiczna i dobrze umotywowana, a rozwinięcie celu jasno pokazuje, że doktorant skupił się na strukturze brodawek oraz procesach molekularnych i biochemicznych w tych organach.

Mocną stroną rozdziału Cel pracy jest syntetyczne przedstawienie hipotez badawczych, które są logicznie powiązane z wykazaną przez Doktoranta luką badawczą i obejmują zarówno aspekty aplikacyjne (dawka, termin stosowania – tu zwracam uwagę na znaczenie wyników dla praktyki rolniczej co potencjalnie wzmacnia wartość aplikacyjną badań), jak i poznawcze (homeostaza strukturalna, regulacja hormonalna, profil lipidowy i białkowy).

Rozdział Materiały i metody (rozdział 3.) został opracowany właściwie i czytelnie. Rozdział ten podzielona na dwa moduły, Materiały (3.1.) liczący 3 podrozdziały oraz rozbudowany moduł Metody (3.2.), liczący 10 podrozdziałów, co przy tak rozbudowanej problematyce badawczej jak najbardziej uzasadnione. Charakterystyka materiału roślinnego przeznaczonego do badań została przedstawiona w formie opisu, materiał stanowiła odmiana łubinu żółtego Taper. Została wyhodowana przez Poznańską Hodowlę Roślin sp. z o.o. (z siedzibą w Tulcach). Była to ceniona, wczesna odmiana samokończąca, wpisana do polskiego Krajowego Rejestru w 2002 roku. W tym module przedstawiono sposób przygotowania doświadczenia (gleba, siew, traktowanie nasion, warunków wzrostu, aplikacja γ -PGA).

Do tej części mam dwie drobne uwagi, które są również motywem do rozwinięcia dla Doktoranta podczas prezentacji.

1. W opisie odmiany ‘Taper’ wspomniano o jej „wyższej odporności na antraknozę”. W dostępnych charakterystykach hodowlanych odmiana ta nie jest jednak klasyfikowana jako odporna, lecz raczej jako umiarkowanie podatna. Warto rozważyć doprecyzowanie tego fragmentu, aby opis cech odmiany był w pełni zgodny z danymi literaturowymi. Jednocześnie warto podkreślić, że rzeczywistą cechą wyróżniającą ‘Taper’ jest jej samokończący typ

wzrostu, jako pierwszej takiej odmiany zarejestrowanej w Polsce. A zagadnienie to rozwinięcia przez Doktorant może dotyczyć kwestii jakie odmiany można wskazać jako odporne na antraknozę?

2. Kolejna drobna nieścisłość dotyczy aplikacji γ -PGA. W opisie metodyki podano, że roztwór γ -PGA aplikowano „po 15 ml na roślinę”. Sformułowanie to jest poprawne ilościowo, jednak nie precyzuje miejsca aplikacji. Ponieważ γ -PGA może być stosowany zarówno doglebowo - wpływa głównie na korzeń, brodawki, gospodarkę wodną, jak i bezpośrednio na roślinę: nadziemne organy roślin - wpływa na sygnalizację, hormony, stres oksydacyjny, okolice szyjki korzeniowej – efekt pośredni. W przypadku związków mogących być stosowanych zarówno doglebowo, jak i bezpośrednio na roślinę, może prowadzić do niejednoznaczności. Dla pełnej klarowności metodycznej warto byłoby doprecyzować, że roztwór podawano do gleby w strefie korzeniowej, mogą się domyślać, że roztwór tak był podawany biorąc pod uwagę cel opracowania.

Drobna uwaga dotyczy Schematu 6., str.45. W schemacie pojawia się skrót „PGA”, który w praktyce komercyjnej bywa stosowany zamiennie z „ γ -PGA”, jednak w ujęciu chemicznym nie są to pojęcia równoważne. PGA jest nazwą ogólną dla polimerów kwasu glutaminowego, natomiast γ -PGA oznacza konkretną, naturalną formę polimeru o wiązaniach peptydowych w pozycji γ , stosowaną w rolnictwie i kosmetyce. Dla zachowania pełnej precyzji terminologicznej w pracy doktorskiej zasadne byłoby konsekwentne używanie oznaczenia „ γ -PGA”.

Poza drobnymi uwagami Metodyka została w pracy opisana bardzo skrupulatnie, a Autor szczegółowo przedstawił wszystkie zastosowane procedury badawcze. Na wyróżnienie zasługuje szeroki zakres przeprowadzonych przez Doktoranta doświadczeń, obejmujący kompleksową ocenę reakcji roślin: analizę pokroju, parametry biometryczne i fizjologiczne, w tym maksymalną wydajność fotosystemu II oraz względną zawartość wody w korzeniach. Oznaczono poziom markerów stresu i pektyn, wykonano analizy molekularne (izolację RNA, ocenę jakości i ilości RNA, qRT-PCR, analizy białek oraz spektrofotometryczne oznaczenie aktywności peroksydazy gwajakolowej). Przygotowano również materiał do badań mikroskopowych, obejmujących krojenie półcienkich skrawków, analizę histologiczną, immunofluorescencyjną lokalizację związków (3 hormony stresowe - kwas abscysynowy ABA, 1-aminocyklopropano-1-karboksylowy ACC jako prekursor etylenu, kwas jasmonowy JA, enzym lipidowy - FAAH, odpowiadający za hydrolizę amidów kwasów tłuszczowych.) oraz ocenę ultrastruktury (ocena subkomórkowa organizacji brodawek korzeniowych w mikroskopii TEM).

Tu również drobna uwaga dotycząca przejrzystości. W opisie procedury immunofluorescencyjnej (3.2.9. str. 64) przedstawiono szczegółowy przebieg reakcji, jednak zabrakło krótkiej listy związków, które były lokalizowane tą metodą. Informacja ta pojawia się dopiero w Tabeli 11, dlatego warto byłoby rozważyć jej wyraźne wyszczególnienie w tekście, aby ułatwić czytelnikowi szybkie zorientowanie się, jakie epitopy były przedmiotem analizy.

Rozdział 4. Wyniki jest obszernym rozdziałem co jest konsekwencją rozbudowanego i kompleksowego programu badawczego. Wyniki zostały przedstawione na 30 stronach, podzielono je na osiem podrozdziałów: 4.1 „Optymalizacja dawki oraz czasu aplikacji γ -PGA”, 4.2. „Wpływ γ -PGA na strukturę brodawek korzeniowych *L. luteus* uprawianego w warunkach suszy glebowej”, 4.3. „Gospodarka redoks w korzeniach *L. luteus* w warunkach suszy i po zastosowaniu γ -PGA”, 4.4. „Wpływ γ -PGA na strukturę ścian komórkowych brodawek korzeniowych *L. luteus* w warunkach suszy glebowej”, 4.5. „Wpływ suszy glebowej i γ -PGA na czynniki molekularne regulujące powstawanie i funkcjonowanie brodawek korzeniowych” 4.6. „Wpływ γ -PGA na przemiany hormonalne zachodzące w brodawkach korzeniowych *L. luteus* uprawianego w warunkach deficytu wody w glebie”, 4.7. „Wpływ γ -PGA na przemiany

lipidowe zachodzące w brodawkach i korzeniach *L. luteus* uprawianego w warunkach deficytu wody w glebie”, 4.8. „Susza i γ -PGA modyfikują profil białek w korzeniu *L. luteus*.

Zakres przedstawionych wyników, zawierający analizy fizjologiczne, cytochemiczne, molekularne, hormonalne, lipidowe i proteomiczne, świadczy o wyjątkowo dużym nakładzie pracy doktoranta oraz o jego umiejętności prowadzenia badań o wysokim stopniu złożoności ale jest dowodem, że Pan Sebastian Burchardt bardzo efektywnie wykorzystał wiedzę i praktyczne umiejętności zdobyte na szkoleniach w 2023 i 2025 roku. Uzyskane dane są spójne, wielopoziomowe i wzajemnie się uzupełniają, co znacząco podnosi wartość naukową dysertacji i stanowi bardzo mocny wkład w zrozumienie mechanizmów odpowiedzi roślin motylkowatych na stres suszy oraz roli γ -PGA jako czynnika łagodzącego skutki tego stresu.

W rozdziale 5. „Dyskusja” Autor na 27 stronach, prawidłowo opisuje wyniki swoich badań, konfrontując je z dokonaniem innych pracowników naukowych. Doktorant odnosi się do licznej literatury głównie zagranicznej i bardzo aktualnej oraz polskiej aby zaznaczyć rolę gatunku w naszym kraju. Sposób przygotowania rozdziału Dyskusja świadczy o bardzo dobrych kompetencjach Doktoranta do wykonanych badań i znajomości zagadnień związanych z różnorodnością procesów fizjologicznych, biochemicznych, regulacji ekspresji genów, równowagi hormonalnej i zmianami proteomu ale też ultrastrukturami komórki poddanej stresowi suszy. Kandydat wybrał do testowania hipotez badawczych łubin żółty będący gatunkiem o dużym potencjale pod kątem zastosowania gospodarczego. Ten fakt podnosi wartość opracowania przedstawionego przez Pana mgr Sebastiana Burchardta gdyż poza aspektem poznawczym wnosi również aspekt społeczny, ekologiczny (roślina poprawiająca strukturę gleby i wzbogacająca w azot) i aplikacyjny gdyż przed postępowaniem biologicznym w branży hodowlanej i nasiennej łubinu staje ogromne wyzwanie dopasowania uprawianych odmian do wymagań społecznych (np. alergię pokarmową jak celiakia – a łubin jest składnikiem wielu bezglutenowych mieszanek), rynkowych oraz do zmieniających się warunków środowiskowych (np. globalne ocieplenie i okresy suszy). Doktorant w dyskusji wspomina o wysokiej wartości gospodarczej *Lupinus luteus*, a mimo tego jego uprawa w Polsce ma wciąż niszowy charakter, głównie ze względu na wysoką wrażliwość na deficyt wody w glebie. Wskazana w tekście wrażliwość łubinu żółtego na niedobór wody jest istotnym ograniczeniem produkcyjnym, jednak niszowy charakter gatunku wynika również z innych czynników. Proszę o rozwinięcie, jakie to czynniki? W aspekcie gospodarczego znaczenia łubinu żółtego istotną byłaby ocena plonowania tej rośliny w trzech analizowanych wariantach (optymalny – 70% WHC, susza – 25% WHC oraz susza + γ -PGA). Z powodu rozbudowanej części eksperymentalnej nie uważam, aby był to element zmniejszający wartość pracy. Moje pytanie jest następujące: czy planowane są badania dotyczące określenia bezpośredniego wpływu γ -PGA na plon łubinu w wariantach analizowanych w obecnej rozprawie doktorskiej? Doktorant w rozdziale Wstęp powołuje się na pracę przeglądową Al-Wahili i wsp. (2023), gdzie można znaleźć informacje o 10–30% wzroście plonowania po aplikacji γ -PGA, jednak nie są to dane uwzględniające stres suszy glebowej. Stąd takie bezpośrednie badania miałyby duży potencjał aplikacyjny w uprawie nie tylko łubinu, ale również innych gatunków motylkowatych. Jaka jest opinia Doktoranta? Czy zastosowanie γ -PGA może zwiększyć tolerancję łubinu żółtego na suszę w warunkach polowych i poprawić stabilność plonowania na glebach lekkich?

Autor na podstawie swoich badań w rozdziale 6. Wnioski sformułował najistotniejsze konkluzje wynikające z tak obszernych badań. Można je przedstawić w syntetycznej formie w następujący sposób:

a) γ -PGA efektywnie osłabia skutki suszy glebowej w korzeniach *L. luteus*, wpływając na stabilizację metabolizmu podstawowego, gospodarkę wodną oraz funkcjonowanie brodawek korzeniowych

b) biopolimer ten podnosi tolerancję roślin na stres suszy glebowej, wzmacnia potencjał antyoksydacyjny a poprzez modyfikacje składników budulcowych chroni integralność ścian komórkowych oraz lipidów

c) ogranicza równocześnie aktywację szlaków hormonalnych związanych ze stresem i dokonuje przeprogramowania proteomu w kierunku generowania związków ochronnych.

Dzięki uruchomieniu szeregu procesów ochronnych kwas poli- γ -glutaminowy podtrzymuje aktywność brodawek korzeniowych i stabilność symbiozy w warunkach stresu suszy.

Wnioski zostały sformułowane prawidłowo i pozostają w pełnej zgodności z zakresem oraz wynikami przeprowadzonych analiz. Zwrócę uwagę na zamieszczony schemat który w niezwykle syntetyczny i ciekawy graficzny sposób przedstawia hipotetyczny model działania γ -PGA.

Wniosek końcowy

Praca doktorska Pana mgr Sebastiana Burchardta została wykonana poprawnie pod względem metodycznym, a wartość jej wyników oceniam bardzo wysoko. Uzyskane wyniki wnoszą nowe oryginalne wartości poznawcze w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Autor posiada umiejętności wykorzystania zaawansowanych metod molekularnych i właściwego ich zastosowania w wieloaspektowych badaniach wpływu suszy glebowej na funkcjonowanie brodawek korzeniowych i korzeni *Lupinus luteus* – od zaburzeń gospodarki wodnej, silnego stresu oksydacyjnego, przebudowy ściany komórkowej, zmian w metabolizmie lipidów, głębokich przesunięć hormonalnych i spadku ekspresji genów symbiotycznych, aż po wyraźne przeprogramowanie proteomu. Doktorant przedstawił również wyniki potwierdzające protekcyjnie działanie biostymulantów takich jak γ -PGA w warunkach deficytu wody. Doktorant wykazał się umiejętnościami właściwej interpretacji uzyskanych wyników. Prezentowane wyniki badań spełniają również ważny formalny wymóg spójności tematycznej, gdyż oscylują wokół analiz morfologicznych, fizjologicznych, molekularnych i anatomicznych łubinu żółtego (głównie systemu korzeniowego) prowadzonego w warunkach optymalnej wilgotności gleby, poddanego stresowi suszy glebowej, oraz suszy z włączonym biostymulantem w postaci γ -PGA. Poziom edytorski rozprawy jak również jej styl, poprawność, przejrzystość i jednoznaczność oceniam pozytywnie.

Praca doktorska Pana mgr Sebastiana Burchardta spełnia zatem warunki stawiane pracom doktorskim określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. z 2021 r., poz. 478) i wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoką wartość naukową prezentowanego opracowania oraz potencjalne znaczenie aplikacyjne prezentowanych wyników wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej. Uzasadnienie zostało dołączone do recenzji w osobnym wniosku do prof. dr hab. Justyny Rogalskiej, Dziekana Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

