

dr hab. inż. Beata Smolik, prof. ZUT
Katedra Bioinżynierii
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17
71-434 Szczecin

Szczecin, dn. 24.11.2021

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Marty Walentynowicz
pt. „Reakcja olszy szarej (*Alnus incana* (L.) Moench) i olszy czarnej (*Alnus
glutinosa* Gaertn.) na zanieczyszczenia pierwiastkami śladowymi Cu, Zn, Cd i Pb
wykonanej w Instytucie Dendrologii
Polskiej Akademii Nauk
pod kierunkiem prof. dr hab. Gabrieli Lorenc-Plucińskiej

1. Podstawa formalna opracowania recenzji

Niniejsza recenzja została napisana w odpowiedzi na pismo Pana Przewodniczącego Komisji d.s. Przewodów Doktorskich, dr. hab. Tomasza Pawłowskiego, prof. ID PAN z dnia 01.10.2021 wraz z informacją, że decyzją Rady Naukowej Instytutu Dendrologii Polskiej Akademii Nauk zostałam powołana na recenzentkę ww. pracy.

2. Ocena wyboru problematyki badawczej

Na skutek wyeksploatowania zasobów naturalnych, a także intensywnego rozwoju przemysłu i transportu, środowisko glebowe podlega nieustannym procesom degradacji i dewastacji. Na terenach zlokalizowanych wokół zakładów przemysłowych, w tym hut obserwuje się postępującą degradację chemiczną przyczyniającą się do zmniejszenia ilości materii organicznej, zakwaszenia oraz zanieczyszczenia gleb ksenobiotykami, w tym metalami ciężkimi. Znacznie podwyższone stężenia metali ciężkich przyczyniają się do zmniejszenia liczby mikroorganizmów i niejednokrotnie są przyczyną obniżonej aktywności enzymów glebowych. Enzymy katalizując istotne procesy glebotwórcze, biorą udział w humifikacji materii organicznej, uwalnianiu i udostępnianiu roślinom substancji mineralnych, wiązaniu azotu atmosferycznego, nitryfikacji, denitryfikacji czy detoksykacji różnych ksenobiotyków.

W roślinie metale ciężkie zakłócają procesy fizjologiczne i biochemiczne. Efektem tego jest osłabiony wzrost i rozwój roślin, a także generowanie reaktywnych form tlenu. Ich nadprodukcja może powodować wiele nieodwracalnych i niekorzystnych dla roślin skutków. Związki te powodując utlenianie mogą uszkadzać główne składniki komórek (białka, lipidy, kwasy nukleinowe czy związki niskocząsteczkowe).

Tradycyjną formą zagospodarowania gleb zdegradowanych, w tym wokół hut, jest zalesianie. Olsze, w porównaniu do innych gatunków drzew posiadają zdolności adaptacyjne i łatwo przystosowują się do różnych warunków siedliskowych. Ponadto dzięki symbiozie z promieniowcami *Frankia* i grzybami mykoryzowymi, mają dostęp do składników pokarmowych. Obecność także innych mikroorganizmów degradujących szkodliwe substancje żyjących w strefie ryzosfery olszy, wpływa na poprawę jakości gleby. Dzięki temu olsza ma relatywnie duże szanse na wzrost i rozwój w zdegradowanej i ubogiej w składniki odżywcze glebie. Ma istotne znaczenie dla renowacji terenów zdegradowanych. Gatunek ten toleruje także siedliska o wysokim poziomie wód gruntowych i opadowych, często stagnujących na powierzchni przez kilka miesięcy.

Adaptacja roślin do warunków środowiskowych jest wynikiem zmian, które następują na wszystkich poziomach organizacji rośliny (morfologicznym, fizjologicznym, biochemicznym, molekularnym). Pozwalają one im przeżyć w zmieniających się warunkach środowiskowych.

Wobec powyższego przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Marty Walentynowicz porusza niezmiernie ważne zagadnienia naukowe związane z oceną potencjału dwóch gatunków olszy do wzrostu w warunkach stresów środowiskowych, na potrzeby wykorzystania tych drzew do zalesiania terenów zdegradowanych i czasowo zalewanych. Ocena odpowiedzi dwóch badanych gatunków olszy na stresy środowiskowe oraz powiązanie jej z właściwościami fizyko-chemicznymi i biologicznymi podłoża wymagało od Autorki kompleksowego podejścia.

Uwzględniając powyższe stwierdzić należy, że podjęta przez mgr inż. Martę Walentynowicz problematyka, w tym jej wieloaspektowe ujęcie problemu jest wysoce interesujące i aktualne, zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i praktycznego. Dodatkowym wskaźnikiem jego aktualności jest to, że praca została sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu nr N N303 799540.

3. Formalna ocena pracy

Przedłożona mi do oceny rozprawa została przygotowana w formie monografii w języku polskim, w oparciu o oryginalne wyniki badań własnych, otrzymane w zrealizowanych przez Autorkę eksperymentach wazonowych (jednosezonowe i dwusezonowe doświadczenie z uprawą olszy w podłożu zanieczyszczonym toksycznymi pierwiastkami śladowymi oraz uprawa olszy w warunkach stresu kumulatywnego czyli w podłożu zanieczyszczonym toksycznymi pierwiastkami śladowymi i czasowego zalewania).

Maszynopis rozprawy liczy 145 stron. Całość została podzielona na 8 podstawowych rozdziałów, wyodrębnionych zgodnie z klasycznym schematem redagowania prac naukowych. Cztery z nich zawierają podrozdziały. W pracy zamieszczono Streszczenie w języku polskim i angielskim (4 strony), Wykaz skrótów (1 strona), Wstęp (22 strony), Cel pracy i hipotezy badawcze (2 strony), Materiał i metody (12 stron), Wyniki (40 stron) i Dyskusję (19 stron), Wnioski (2 strony), Bibliografię (29 stron). W pracy zamieszczono 13 tabel, w tym 7 tabel i 23 wykresy z wynikami przeprowadzonych badań oraz 7 fotografii, w tym 2 dokumentujące materiał doświadczalny.

Pomiędzy poszczególnymi rozdziałami zostały zachowane prawidłowe proporcje. Rozdziały ściśle się zazębiają i stanowią logiczną całość.

Wykaz literatury został sporządzony bardzo starannie. Autorka wykorzystała 340 pozycji literaturowych. W tej liczbie znalazły się w większości pozycje anglojęzyczne (324), prace eksperymentalne, artykuły przeglądowe, pozycje książkowe, a także trzy pozycje internetowe. Na uwagę zasługuje fakt, że ponad 46% cytowanych prac zajmują pozycje z ostatniej dekady. Prace zostały poprzecznie zacytowane i znalazły się zarówno w tekście rozprawy jak i w rozdziale Bibliografia. Bardzo przydatny w interpretacji wyników oraz analizowaniu rozprawy doktorskiej jest wykaz skrótów umieszczony przed rozdziałem Wstęp.

4. Merytoryczna ocena pracy

Tytuł pracy w moim odczuciu nie do końca został prawidłowo sformułowany. Wydaje się, że brzmiałby lepiej po drobnych modyfikacjach. W obecnej formie, tylko częściowo zawiera treści przedstawione w pracy. W tytule nie uwzględniono informacji o reakcji olszy na stres związany z czasowym zalewaniem oraz analiz środowiska glebowego, które w moim odczuciu zajmowały więcej miejsca w recenzowanej pracy niż oceniana reakcja roślin.

Rozdział **Wstęp** czytelnie wprowadza do zagadnień rozważanych w dalszej części rozprawy. Został podzielony na 3 części. W pierwszej części Autorka przybliżyła zagadnienia związane z problematyką występowania metali ciężkich w ekosystemach, ich źródłach, oraz reakcji fizjologicznej i biochemicznej organizmów roślinnych na te związki. Autorka przybliżyła także w tym rozdziale problem występowania toksycznych pierwiastków śladowych w Legnicko-Głogowskim Okręgu Miedziowym. Kolejny rozdział dotyczy zagadnień związanych z olszami, w którym Autorka przedstawiła argumenty za zastosowaniem olszy do nasadzeń na glebach zdegradowanych przez przemysł. W rozdziale tym Autorka bardzo obszernie i szczegółowo opisała populacje mikroorganizmów glebowych zdolnych do tworzenia efektywnych oddziaływań symbiotycznych z tym gatunkiem rośliny. Opisane zostały także inne drobnoustroje ryzosferowe i powiązana z nimi aktywność enzymatyczna gleb, wpływająca na jakość gleb. W ostatnim rozdziale Autorka przybliżyła zagadnienia dotyczące powodzi rzecznych, jako dodatkowego czynnika stresowego na obszarach zanieczyszczonych przez przemysł.

W rozdziale **Materiał i metody** Autorka szczegółowo przedstawiła charakterystykę i opis doświadczeń (miejsce pobrania próbek gleby kontrolnej i skażonej, pochodzenie sadzonek dwóch gatunków olszy, przygotowanie gleby i roślin do analiz). Następnie Autorka opisała szeroki zakres metod wykorzystywanych w ocenianej pracy z zakresu mikrobiologii środowiskowej, biochemii i fizjologii, analityki chemicznej. Zastosowane metody zostały właściwie dobrane do zamierzonego celu badań.

W ramach przeprowadzonych doświadczeń wazonowych w badanych podłożach Autorka oznaczyła: właściwości i skład mineralny, parametry biochemiczne (całkowita zawartość rozpuszczalnych związków fenolowych), enzymatyczne (aktywność arylosulfatazy, dehydrogenaz, fosfomonoesteraz, proteaz i ureazy), a także mikrobiologiczne (liczebność promieniowców, bakterii oligotroficznych i koptotroficznych). Natomiast w materiale roślinnym Autorka przeprowadziła ocenę morfo-fizjologiczną (skład mineralny, biomasa, zawartość chlorofilu całkowitego) i ocenę biochemiczną (analizy parametrów stresu oksydacyjnego: zawartość $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , MDA, aktywności enzymów: SOD, CAT, APX, GPX, GR oraz nieenzymatycznych antyoksydantów - askorbinianu). Zbadała także funkcjonowanie partnerstwa symbiotycznego korzeni olszy z promieniowcem *Frankia*, poprzez analizę sprawności wiązania N_2 , na podstawie stopnia redukcji acetylenu.

Rozdział **Wyniki** został podzielony na dwie części. Autorka syntetycznie i czytelnie omówiła uzyskane wyniki badań, popierając je odpowiednio dobranymi analizami

statystycznymi. Wyniki zostały przedstawione w tym rozdziale na zrozumiałych wykresach oraz w tabelach.

Dyskusja w moim odczuciu jest mocną stroną ocenianej rozprawy. Została przedstawiona w czterech podrozdziałach. Autorka bardzo obszernie, kompleksowo i rzeczowo konfrontuje wyniki własnych badań z wynikami badań innych autorów, co świadczy o bardzo dobrej znajomości piśmiennictwa dotyczącego realizowanej tematyki. Podkreślić należy, że w rozdziale tym zostały przedyskutowane wszystkie poruszane aspekty badań. Autorka wyjaśnia zależności biologiczne dotyczące oznaczanych parametrów i tendencje uzyskane w badaniach własnych. Zagadnienia omawiane w tym rozdziale korespondują chronologicznie z wynikami opisanymi w rozdziale wyniki. Przy tak dużej liczbie danych Autorka opracowania poradziła sobie umiejętnie, w związku z czym tekst Dyskusji jest przejrzysty, a cytowane pozycje literatury są dobrze dobrane. Doceniam trudności w interpretacji uzyskanych wyników badań, zwłaszcza dotyczących parametrów stresu oksydacyjnego, gdyż reakcję roślin na badane czynniki stresowe obserwowano zarówno pomiędzy gatunkami, pomiędzy roślinami z różnych proveniencji, jak również pod wpływem zastosowanych stresów. Dlatego też, w celu ułatwienia interpretacji wyników, dodatkowo Autorka zamieściła w tym rozdziale Tabelę syntetyzującą wyniki badań (Tabela 13). Wyjątkowo cenny wydaje się tutaj podrozdział czwarty Dyskusji dotyczący odpowiedzi olszy oraz reakcji elementów ryzosfery na stres kumulatywny. Autorka szczegółowo wyjaśnia tam związki przyczynowo - skutkowe stresów kumulatywnych na poziomie glebowym i w odniesieniu do roślin. Dyskutowane jest praktyczne znaczenie prowadzonych badań.

Osiągnięte wyniki badań pozwoliły Autorce na wyciągnięcie i poprawne sformułowanie siedmiu **wniosków**, z których do najważniejszych zaliczam:

- wykazanie, że olsza czarna i olsza szara były zdolne do wzrostu w podłożu zanieczyszczonym fitotoksycznymi stężeniami pierwiastków śladowych (Cu, Pb, Zn i Cd), natomiast po dwóch sezonach uprawy następowało istotne zredukowanie biomasy pędów i całych siewek;
- wykazanie, że zanieczyszczenia metalami śladowymi z jednoczesnym deficytem składników odżywczych w glebie negatywnie wpływało na efektywność partnerstwa symbiotycznego z promieniowcem *Frankia* i prowadziło do redukcji aktywności mikrobiologicznej w warstwie ryzosferowej gleby;

- wykazanie, że okresowe zalewanie pogłębiało redukcję aktywności mikrobiologicznej gleby w strefie ryzosferowej obu gatunków olszy powodowaną przez stres fitotoksycznych stężeń metali śladowych w glebie;
- wykazanie, że oba gatunki olszy utrzymały aktywnie działającą symbiozę z promieniowcem *Frankia* wobec stresu kumulatywnego;
- stwierdzenie, że oba gatunki olszy mogą być wykorzystane do zalesiania terenów ubogich w składniki pokarmowe i zanieczyszczonych przez przemysł wydobywczy, narażony dodatkowo na występowanie powodzi z sąsiednich rzek.

Podczas czytania rozprawy nasunęły mi się pewne sugestie i uwagi, które w tym miejscu chciałabym przytoczyć:

- brak w pracy schematu badań, który umożliwiłby szybką orientację w tej ogromnej ilości różnorodnych badań;
- brak informacji odnośnie metod oznaczania parametrów fizykochemicznych gleb, a także metod instrumentalnych przy niektórych parametrach biochemicznych;
- ujednolicenia jednostki na wykresach, w której wyrażono zawartość H_2O_2 ;
- zamieszczenia informacji o tym, kiedy posadzono sadzonki i kiedy pobrano materiał roślinny oraz podłoże wzrostowe do analiz (jedyna informacja zawarta jest w rozdziale wyniki str 53: w doświadczeniu jednosezonowym (23 tygodnie), dwusezonowym (72 tygodnie), natomiast brak tej informacji odnośnie trzeciego doświadczenia);
- brak informacji w wynikach badań w tekście oraz na wykresach o jaki chlorofil chodzi, z wniosków wynika, że chlorofil całkowity;
- we wnioskach napisała Autorka:
 „nie stwierdzono istotnych zmian oksydacyjnych w błonach komórkowych korzeni” oraz „nie wykazano peroksydacji lipidów błon komórkowych”, moim zdaniem określenie to nie zostały poprawnie użyte, gdyż nie było to badane, natomiast oznaczany był główny produkt peroksydacji lipidów czyli dialdehyd malonowy.

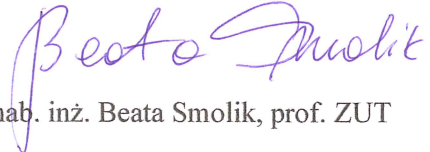
Zamieszczone w recenzji uwagi w żadnym stopniu nie obniżają merytorycznej wartości pracy, którą oceniam bardzo wysoko.

5. Wnioski końcowe

Recenzowana praca doktorska Pani mgr inż. Marty Walentynowicz pt. „Reakcja olszy szarej (*Alnus incana* (L.) Moench) i olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.) na zanieczyszczenia pierwiastkami śladowymi Cu, Zn, Cd i Pb”, jest bardzo wartościowa. Praca

nie budzi zastrzeżeń zarówno pod względem formalnym i merytorycznym. Stanowi ona samodzielne rozwiązanie zaprezentowanego w niej problemu naukowego przy użyciu zastosowanych kompleksowych metod badawczych. Sposób ich realizacji i interpretacja uzyskanych wyników, pozwalają stwierdzić, że Doktorantka posiada duży zasób wiedzy zarówno teoretycznej, jak i specjalistycznej. W związku z powyższym przedstawiona dysertacja spełnia ustawowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim w Artykule. 13 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65 poz 595 z dnia 14 marca 2003 r., z późniejszymi zmianami). W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Dendrologii Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Pani mgr inż. Marty Walentynowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego w celu nadania stopnia naukowego doktora w dyscyplinie nauki biologiczne.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną oraz charakter interdyscyplinarny pracy oraz wartość praktyczną wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marty Walentynowicz.


dr hab. inż. Beata Smolik, prof. ZUT